

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1970

THÈSE

N°

192

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Claudine ARON - SAMUEL

née le 17 décembre 1943 à GENEVE (Suisse)

Attachée - Assistante à la Faculté de Médecine de Paris

Présentée et soutenue publiquement le

D'UN TEST PHARMACOLOGIQUE UTILISABLE
POUR LA SELECTION DE TRANQUILLISANTS

Président : M. J.R. BOISSIER, Professeur

année 1970

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Claudine ARON - SAMUEL

née le 17 décembre 1943 à GENEVE (Suisse)

Attachée - Assistante à la Faculté de Médecine de Paris

Présentée et soutenue publiquement le

D'UN TEST PHARMACOLOGIQUE UTILISABLE
POUR LA SELECTION DE TRANQUILLISANTS

Président : M. J.R. BOISSIER, Professeur



A TOUS CEUX QUE J'AIME

MA FAMILLE,

MES AMIS.

A Monsieur le Professeur Jacques-R. BOISSIER

Qui nous a reçue avec bienveillance dans son équipe, à la Faculté de Médecine, puis à l'INSERM.

Nous y avons appris à connaître son grand talent d'enseignant, son esprit aiguisé et son enthousiasme toujours présent,

Il nous a fait le très grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Qu'il trouve ici le témoignage de notre sincère attachement et de notre respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur Agrégé Pierre SIMON

Qui nous a entraînée dans l'univers de la pharmacologie par son enthousiasme communicatif, son esprit ouvert à toute recherche, par un certain non-conformisme, et par la forme nouvelle de son enseignement.

Que ce soit au laboratoire ou dans l'équipe d'enseignants du C.H.U. Pitié-Salpêtrière, l'ambiance de travail où seule, existe la hiérarchie des connaissances, a toujours été merveilleuse.

Son aide et ses conseils nous ont été précieux maintes et maintes fois.

Il nous a inspiré le sujet de ce travail et nous a constamment guidée dans sa réalisation.

Qu'il trouve ici l'expression de notre indéfectible amitié, et de notre profonde reconnaissance.

A Mademoiselle le Professeur Jeanne LEVY

Avec ma respectueuse admiration.

A Monsieur le Professeur René HAZARD

En respectueux hommage.

A Monsieur le Professeur Jean CHEYMOL

En respectueux hommage.

A Monsieur le Professeur Paul LECHAT

En respectueux hommage.

A Monsieur le Professeur Henri SCHMITT

En respectueux hommage.

A Monsieur le Professeur Agrégé Georges CHEYMOL

En respectueux hommage.

A Monsieur le Professeur Agrégé P. DENIKER

A Monsieur le Professeur J. B. DEPARIS

A Monsieur le Professeur MURRAY E. JARVIK

et à tous les amis rencontrés dans son laboratoire de
l'Albert Einstein College of Medicine.

A Monsieur le Docteur Claude LAROUSSE,

et à tous les Collaborateurs de Monsieur le Professeur
J.-R. BOISSIER et de Monsieur le Professeur Agrégé
P. SIMON

Dont l'expérience et l'amitié nous ont beau-
coup facilité la réalisation de ce travail ;

A Madame FUSIBET et à Madame CLOT.

Ce travail a été effectué à l'Unité de Neuropsychopharmacologie
de l'INSERM U 19, 2 rue d'Alésia, Paris XIVè.

INTRODUCTION

Nous aurions aimé introduire ce travail ainsi : "c'est à partir d'une hypothèse de travail intéressante que, rapprochant l'effet clinique des tranquillisants de certaines des modifications du comportement qu'ils induisent chez l'animal dans certaines conditions expérimentales, nous avons imaginé un test de tri des tranquillisants chez la souris ; les résultats se sont montrés en tous points conformes à nos prédictions".

Il n'en est rien, hélas !

Une approche très indirecte nous a permis d'arriver à un test, certes imparfait, mais qui s'est cependant révélé intéressant.

Ce test a pris naissance au sein d'une équipe de psychopharmacologues où deux courants de recherche coexistaient : les uns s'intéressaient aux méthodes d'études de la mémoire, tandis que d'autres centraient leur intérêt sur les méthodes de tri des tranquillisants.

C'est en étudiant un test d'apprentissage suppressif décrit par Slotnik et Jarvik (1968) dans le cadre des méthodes d'étude de la mémoire que, gagnée par l'intérêt porté par les autres chercheurs du groupe aux tests de tri, nous avons à tout hasard regardé comment des drogues modifiaient le comportement des animaux dans ce test : nous avons d'abord essayé une dizaine de produits appartenant aux divers groupes des substances psychotropes.

A notre grande surprise, il est apparu que les tranquillisants affectaient de manière très particulière le comportement des souris, au contraire des autres drogues.

Il semblait donc que ce test pouvait peut-être constituer un test de tri des tranquillisants.

Nous exposerons maintenant quels sont les tests de tri (dits parfois de screening) habituellement utilisés pour les tranquillisants, et nous regarderons s'ils possèdent les caractères d'un bon test de tri.

Nous décrirons ensuite la première partie de notre travail expérimental ; il s'agit d'une étude préliminaire, qui a été conduite afin

de nous assurer de la reproductibilité des premiers résultats ; nous avons voulu aussi vérifier si nos premières conclusions quant à la sélectivité du test ne s'écroulaient pas dès l'introduction de quelques autres substances.

La seconde partie du travail expérimental étudie la valeur du test, comme test de tri des tranquillisants : l'étude a porté sur environ 80 produits et a nécessité plus de 5 000 souris.

LES TESTS DE TRI DES TRANQUILLISANTS

Un bon nombre de revues générales ont été consacrées aux tranquillisants et à leurs méthodes d'études (Hanson and Stone, 1964 ; Cook and coll., 1963 ; Randall and coll., 1968 Irwin, 1968 Giurgia, 1969 Boissier et Simon, 1969).

A - Un premier groupe de tests repose sur des propriétés peu spécifiques des tranquillisants :

1 - Des propriétés sédatives, décelées, soit sur l'observation simple des animaux, soit sur des études de motilité ; la sédation est une propriété peu spécifique des tranquillisants, puisque même si l'on exclut les produits aux doses où ils rendent les animaux "malades", sont susceptibles d'être sédatifs non seulement des tranquillisants ou des hypnotiques, mais encore des antihistaminiques, des neuroleptiques et des antidépresseurs à dose élevée.

Nous en rapprocherons la potentialisation des "dépresseurs", c'est-à-dire en pratique, du "sommeil" induit par le chloral, l'éther ou un barbiturique.

2 - L'antagonisme vis-à-vis de diverses formes d'agressivité (Valzelli, 1967) :

- celle due à un isolement plus ou moins long des animaux,
- celle induite dans un couple de souris par des chocs électriques,
- celle due à des lésions cérébrales,
- ainsi qu'à celle spontanée
 - . de certains rats dits "tueurs", face à une souris
 - . du Betta Splendens ou poisson combattant du Siam lorsqu'il est mis en présence d'un congénère
 - . de nombreux singes et de divers animaux sauvages.

Il est certain que ces divers tests d'"agressivité" ne sont pas le

reflet d'un seul et unique phénomène. C'est peut-être ce qui explique qu'ont été dits "anti-agressifs" des produits aussi divers que des tranquillisants, des hypnotiques, des neuroleptiques, des anesthésiques généraux, des anti-dépresseurs des deux groupes, des analgésiques centraux, l'amphétamine et même le lysergamide.

3 - Des propriétés anti-convulsivantes (Irwin, 1968)

sur les convulsions expérimentales induites par l'électro-choc ou par des convulsivants divers (pentétilazol, strychnine, flurotyl), propriétés bien sûr non spécifiques puisqu'appartenant également aux anti-épileptiques.

4 - Des propriétés myo-relaxantes (Irwin, 1968)

révélaées par l'étude du tonus musculaire, de la démarche, le test de la tige tournante (Rota-rod), le test de la traction, le test de la cheminée, ou bien par l'antagonisme vis-à-vis de substances qui induisent chez l'animal une rigidité (étonitazine) ou des tremblements (trémorine) ou bien encore par la dépression de réflexes poly-synaptiques sans dépression des réflexes mono-synaptiques.

Il faut reconnaître que des tranquillisants ont été découverts parmi les produits qui possèdent les propriétés dont nous venons de parler. Mais on peut se demander si les tranquillisants actuellement connus ont ces propriétés parce que leur activité tranquillisante est en rapport avec elles, ou s'ils les ont parce que, par analogie aux premiers trouvés, on les a cherchés uniquement parmi les produits qui ont ces propriétés en commun.

En effet, comment est habituellement fait le tri des tranquillisants ? Une démarche fréquente semble être de ne s'intéresser dans un premier temps qu'à des substances qui soient sédatives, myo-relaxantes et anti-convulsivantes ; de rechercher parmi celles-ci celles qui ont, sur certains des tests dont nous allons parler maintenant, des effets analogues à ceux des tranquillisants déjà connus pour les essayer en clinique ; et de ne publier les résultats que pour ceux qui se sont révélés actifs chez l'homme.

On conçoit, devant une littérature aussi "biaisée", la difficulté de se faire une idée claire des rapports qui existent entre propriétés tranquillisantes et les autres propriétés décrites plus haut.

B - Très différentes sont les méthodes centrées sur l'idée de "comportement émotionnel"

Certaines utilisent l'effet anxiogène connu chez l'homme de certaines substances : par exemple Lang et Gershon (1963) administrent de la Yohimbine au chien et obtiennent des réactions qu'on peut, par analogie, interpréter comme des réactions anxieuses.

En dehors du fait que la méthode n'a pas été étudiée avec de nombreuses drogues, elle ne se prête guère au premier tri de tranquillisants, étant donné le coût important des chiens ...

Estes et Skinner (1941) ont conçu une méthode pour conditionner une réponse d'anxiété (C. E. R.)

Si on associe un certain nombre de fois un signal assez durable et un choc électrique à l'arrêt du signal, l'animal (un rat) va, dès le début du signal, arrêter ce qu'il était en train de faire et se figer sur place, avec les signes (poils hérissés, défécation ...) d'une intense émotion ; il ne retournera à ses occupations que le choc passé.

Les auteurs ont qualifié d'anxiété cette réaction car il y a là anticipation d'un phénomène inquiétant (le choc).

Les rats sont classiquement placés dans une boîte de Skinner, où leur activité consiste à déprimer un levier (qui leur procure de la nourriture) ce qu'on enregistre facilement. Quand survient le signal, on voit très bien sur l'enregistrement la diminution ou l'arrêt de cette activité.

La réserpine diminue cette réaction (Brady, 1956, 1968) et il semble que les tranquillisants sont susceptibles également de la diminuer, ou d'en retarder l'apprentissage (Hunt, 1957 ; Lauener, 1963). Cette méthode, dont on ne peut évaluer la sélectivité étant donné le manque de données, ne se prête pas aisément à un tri car elle nécessite un conditionnement préalable des rats à presser sur la pédale.

D'autres méthodes, appelées parfois tests de "conflit", ont été décrites. Elles mettent l'animal - en général un rat - dans une situation où l'activité récompensée est simultanément punie.

Ainsi ont été décrits de nombreux tests :

- un chat reçoit un choc chaque fois qu'il attrape une souris (Sacra et al., 1957).
- des rats assoiffés sont punis d'un choc chaque fois qu'ils boivent (Naess et Rassmussen, 1958).

- des chats reçoivent un fort souffle d'air en plein nez lorsqu'ils ouvrent leur boîte de nourriture.

Deux de ces méthodes nous retiendront plus longtemps, car elles ont donné lieu à de plus nombreux essais de drogues.

- La première a été décrite par Barry et Miller (1962). Des rats sont conditionnés à recevoir leur nourriture dans une mangeoire placée au fond d'une allée, dont on peut faire varier la longueur, et dont le fond est une grille électrifiable. Les rats apprennent que, pour une longueur de l'allée donnée, ils vont recevoir un choc d'intensité donnée avant d'atteindre leur nourriture. Les auteurs mettent en rapport la vitesse à laquelle les rats se dirigent vers la mangeoire avec la "peur" conditionnée. Sur ce test, l'amobarbital et l'alcool accroissent la vitesse des animaux menacés d'un choc, et la morphine provoque l'effet contraire (Barry et al., 1962).

- La deuxième utilise un rat qui presse sur un levier, dans une boîte de Skinner. Pendant certaines périodes, annoncées par un signal, la pression sur le levier entraînera simultanément la récompense et une punition. Selon leur importance relative, pendant ces périodes, le rat pressera plus ou moins, mais le nombre d'appuis est assez stable pour un animal donné dans des conditions expérimentales données.

Il a été montré (Geller, 1960, 1962, 1963 ; Ray, 1963) que si le nombre de ces appuis est faible au départ, il est augmenté par l'administration de méprobamate, phénobarbital, pentobarbital, emylcamate, chlordiazépoxide et réserpine, et s'il est important au départ, l'administration d'amphétamine, de chlorpromazine, de promazine, de trifluopérazine, de bémactazine ou de morphine le diminuera.

Dans les périodes où les appuis sur le levier sont seulement récompensés, on observe les effets inverses, effets qu'on peut en général rapporter aux actions respectivement sédatives et excitantes des produits.

Blackman (1968) a posé le problème de la validité des explications de ces phénomènes en termes d'anxiété : il a en effet montré que si on faisait varier la probabilité d'apparition de la récompense pour un nombre d'appuis donnés, on pouvait à volonté augmenter ou diminuer le nombre d'appuis du rat par unité de temps ; et que simultanément, on voyait varier le nombre de "récompenses-punies" acceptées par les animaux. Quand leur rythme de base était élevé, à l'apparition du signal, plus aucun appui ; quand leur rythme de base était bas, nombreux appuis ; on conçoit la difficulté d'interprétation de ces expériences Si on ajoute à cela que sa réalisation n'est pas rapide, on comprend que ce test ne soit guère utilisé comme test de tri.

C - Essayons de juger ces méthodes en fonction de ce que Janssen (1964) demande à un test de screening :

- l'efficacité, c'est-à-dire qu'il permette de trier tous les tranquillisants.
- la sélectivité, c'est-à-dire qu'il puisse différencier les tranquillisants de toutes les autres drogues.
- la reproductibilité, c'est-à-dire que les produits types aient sur le test toujours le même type d'effet ; cela présuppose que tous les paramètres importants dont dépendent les résultats soient connus.
- la rapidité de son exécution.
- la simplicité quant à l'équipement et aux animaux nécessaires.
- la facilité d'interprétation des résultats, qui doivent se prêter aisément à une étude statistique, et une réalisation du test qui donne des résultats objectifs.
- enfin, une corrélation des résultats de ce test à d'autres, menés chez l'homme et caractérisant une propriété donnée ; cette condition idéale n'est que bien rarement réalisée en psychopharmacologie.

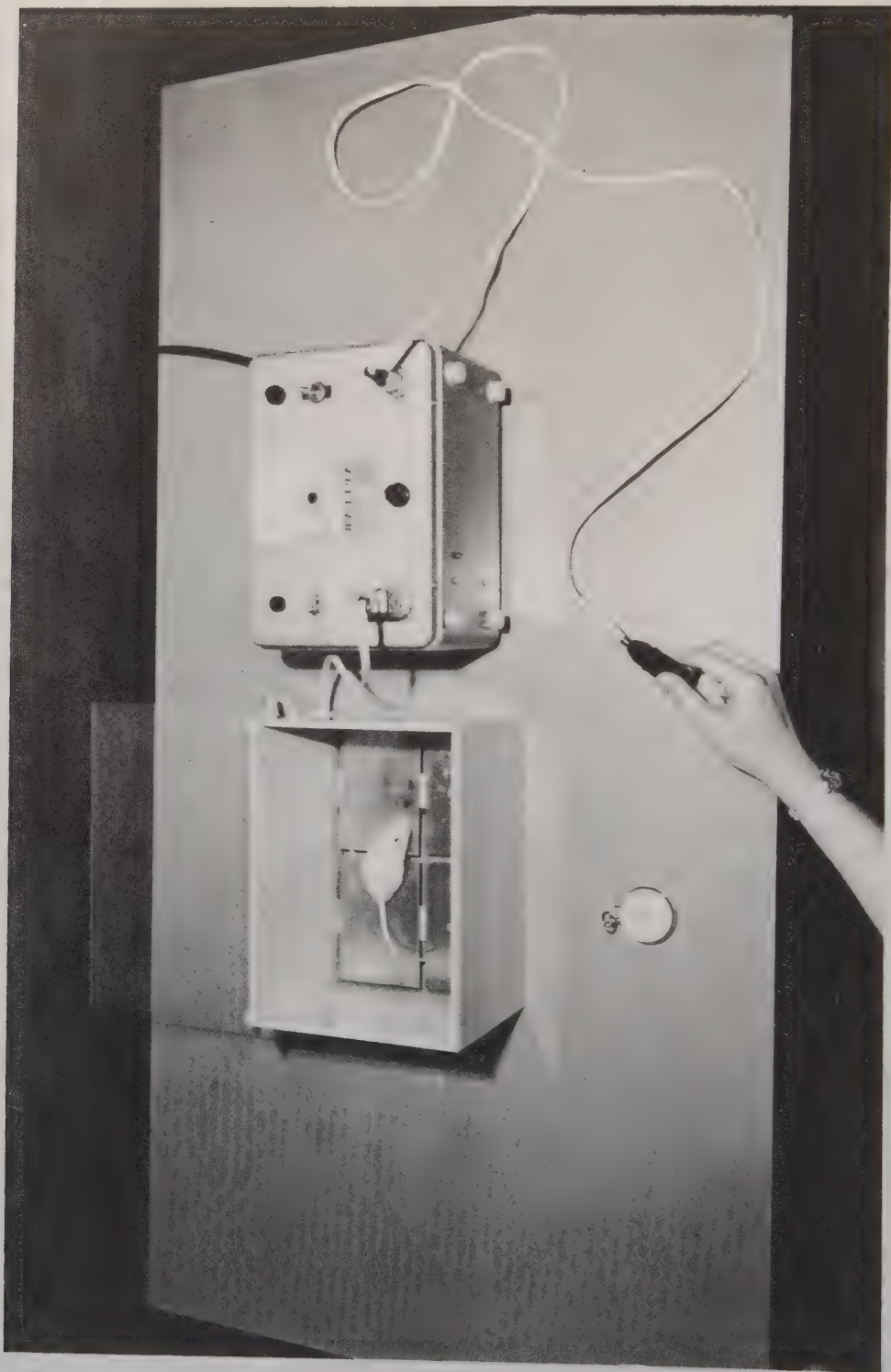
Résumons dans un tableau les tests dont nous avons parlé plus haut et évaluons grossièrement leurs avantages et leurs inconvénients

(Tableau 1 page ci-contre)

Il apparaît bien sur ce tableau qu'aucun de ces tests ne répond à toutes les qualités requises, qu'il s'agisse de l'efficacité, de la sélectivité ou de la simplicité.

EFFET	EXEMPLES DE TESTS UTILISES	EFFICACITE	SELECTIVITE	REPRODUCTIBILITE	SIMPLICITE courte durée
Effet sédatif	observation motilité	+ à fortes doses	-	+	+
Potentialisation des "dépresseurs"	sommeil au meubarbital au chloral	+ -	-	+	+
Effet anti-convulsivant	électro-choc cardiazol, flurotyl	+ mais coïncidence	-	+	+
Relaxation musculaire	rota rod traction cheminée		-	+	+
Effet anti-agressivité	isolement bataille électrique lésions cérébrales rats muricides poissons combattants	+	-	+ -	-
Action sur les réflexes conditionnés	C. E. R. conflit	+ +	- +	+ +	-

Tableau 1



ETUDE PRELIMINAIRE DU TEST

Dans cette partie de l'étude du test, nous avons cherché à définir les conditions expérimentales les plus favorables ; nous avons ensuite étudié les effets de quelques médicaments pour décider si ce test justifiait une étude plus approfondie.

L'APPAREIL

Il se compose de deux éléments :

- 1 - une boîte d'expérience, où la souris est placée pour le test.
- 2 - un circuit d'alimentation.

A - La boîte d'expérience consiste en une boîte parallélépipédique, en plastique ocre, (L. = 25 cm., l. = 18 cm., h. = 16 cm.) munie d'un couvercle en plexiglass transparent.

Son plancher est rectangulaire, les droites joignant les milieux des côtés opposés déterminent quatre rectangles sur chacun desquels est disposée une plaque en métal conducteur mesurant 11,3 x 7,7 cm. Chaque plaque est séparée des autres ou des bords par des interstices de 0,5 cm. de large qui représentent pour la souris des tranchées profondes ; la souris doit traverser directement pour passer d'une plaque à une autre.

B - Le circuit d'alimentation fournit des impulsions de courant constant, (réglables de 0 à 2 milliampères) à toute résistance placée entre deux plaques adjacentes (ici, à une souris). Les impulsions ont une durée réglable de 0,2 ; 0,5 ; 1 seconde. La différence de potentiel à vide entre deux plaques adjacentes est de 180 Volts ; elle est nulle entre deux plaques placées en diagonale.

L'ensemble de l'appareillage a été réalisé par Mr Montagné (Apelab, 29-35, rue des Ecoles, 92 - Bagneux).

Il est représenté sur la photo de la figure 1.

Un déclencheur très sensible est relié au circuit d'alimentation par un fil assez long.

C - L'expérimentateur doit être confortablement assis, déclencheur en main, chronomètre à proximité, le regard plongeant à travers le couvercle transparent vers le fond de la boîte. Cette boîte est placée à quelque distance du circuit d'alimentation afin que les légers bruits qui en proviennent n'affectent pas le comportement des souris.

ANIMAUX UTILISES

Les souris utilisées pesaient de 18 à 25 gr., et étaient âgées d'environ 7 semaines. Elles étaient de sexe mâle, ce pour éviter les modifications du comportement observées chez les femelles aux différents stades du cycle oestral. Les souris à leur arrivée dans le laboratoire sont placées par 12, dans des boîtes en matière plastique à couvercle métallique.

Les souris sont conservées dans l'animalerie avec une alimentation normale pendant un minimum de 24 heures avant d'être utilisées pour l'expérience.

Dans l'animalerie, la température varie entre 21°C et 23°C., et l'éclairage est constant 12 heures sur 24.

DESCRIPTION DU COMPORTEMENT DE SOURIS NAÏVES AU COURS DU TEST

La souris tenue à la base de la queue est déposée sur une des plaques du plancher, face à un coin de la boîte.

1°) En l'absence de choc électrique :

Après quelques secondes d'immobilité, la souris commence à se déplacer, à explorer la boîte, elle renifle les plaques, les murs, et nous n'avons observé que peu de ces signes traduits habituellement comme de l'anxiété que sont la défécation et l'émission d'urines, un aspect immobile ou figé, des toilettes répétées ... L'exploration diminue nettement au cours des trois premières minutes, pour s'arrêter presque complètement vers la dixième minute.

2°) Lorsque le passage d'une plaque à une autre est "puni" par un choc électrique :

Nous avons, après des expériences préliminaires, réglé l'intensité

du choc électrique à 0,6 mA. et sa durée à 0,5 seconde et observé le comportement des souris dans ces conditions où les passages sont punis. Nous n'avons dans cette étude préliminaire pas puni le premier passage de la souris d'une plaque à l'autre, car en effet, il est souvent arrivé que ce premier passage ait lieu avant que l'expérimentateur n'ait eu le temps de refermer le couvercle de la boîte. Au passage suivant donc, alors que la souris est en pont entre deux plaques, l'expérimentateur déclenche l'électrification du plancher.

Sous l'influence du choc, le plus fréquemment, la souris crie et saute, puis se met à courir, passe sur une deuxième plaque, et bloque sa course sur la troisième ; elle se blottit dans un coin, défèque, et ne bouge plus pendant plusieurs secondes, le poil hérissé, et la queue trémulante ; après un moment, elle rompt son immobilité, relève la tête et reprend une exploration prudente. Elle renifle sa plaque, les bords des plaques adjacentes, y met éventuellement une patte, la retire, la remet, avance la seconde et se décide à passer sur cette autre plaque : c'est à ce moment que nous déclenchons le nouveau choc.

Il nous est apparu en effet que si l'on déclenche le choc plus précocement, avant que la traversée ne soit franchement engagée, la souris recule et ne bouge plus ; l'intensité de la punition reçue dans ces conditions est trop variable pour que les expériences puissent être reproductibles.

Ce second choc entraîne des réactions semblables au premier, et s'y ajoute la recherche d'une voie de fuite : la souris saute à plusieurs reprises contre le couvercle, longe les murs puis s'immobilise.

Les traversées et les chocs s'espacent peu à peu, et la souris s'immobilise dans un coin vers la 10ème ou la 15ème minute.

ETUDE PARAMETRIQUE

Nous avons cherché quelles étaient les variations de comportement des souris avec les variations des divers paramètres :

- l'existence d'un choc et son intensité
- sa durée
- la durée d'exploration préalable (sans choc)

1°) L'existence et l'intensité d'un choc

L'observation simple montrait nettement que la punition par un choc des passages d'une plaque à une autre modifiait le nombre des passages ultérieurs

a - Méthode

Nous avons, après avoir laissé un temps d'exploration libre de 15 secondes, compté le nombre de ces passages, minute par minute, pendant cinq minutes. Les passages ont été punis par des chocs d'une durée de 0,5 seconde et d'intensité variable selon les souris : 0 ; 0,2 mA ; 0,4 mA ; 0,6 mA ; 0,8 mA ; ou 1 mA.

Cent vingt souris ont été réparties en 6 lots au hasard, et ainsi, pour chaque intensité, le comportement de 20 souris a été examiné.

b - Résultats

Les résultats sont représentés dans le tableau 2

INTENSITE en m. A.	NOMBRE DE PASSAGES PENDANT LES CINQ PREMIERES MINUTES				
	1e	2e	3e	4e	5e
0,0	8,1	6	5,6	5,2	4,9
0,2	5,8	3	2,3	1,6	1,3
0,4	4,8	1,8	1,1	0,5	0,3
0,6	4,4	1,9	1,1	1,7	0,4
0,8	4,1	1,4	1,2	0,5	0,3
1,0	3,8	1,4	1,0	0,3	0,3

Variation du nombre de passages avec l'intensité des chocs.

Tableau 2

c - Discussion

Ces résultats concordent avec la simple observation pour montrer qu'il existe sous l'influence des chocs une suppression conditionnée des traversées. Cette suppression est d'autant plus importante, et surtout à la première et à la seconde minute, que l'intensité du choc est élevée.

Cependant, la suppression croît très peu de 0,4 mA à 1 mA. Nous avons donc choisi pour nos expériences ultérieures la valeur de 0,6 mA, car cette intensité induisait de façon nette chez tous nos témoins une réaction de fuite avec des cris, facile à reconnaître, décrite plus haut, alors qu'à 0,4 mA, cette réaction n'était pas obtenue avec la même régularité ; l'utilisation d'une intensité plus

grande ne nous a semblé offrir aucun avantage supplémentaire.

2°) La durée du choc

La durée utile du choc nous a semblé difficile à fixer. En effet, au dessous de 0,5 seconde, il nous a semblé difficile de synchroniser le choc et le passage de la souris, et par suite d'évaluer le nombre de chocs réellement reçus par la souris. Entre 0,5 et 1 seconde, il n'est pas apparu de différence entre le nombre de chocs reçus par les souris des deux groupes (4,56 contre 4,58, moyennes de douze souris à la première minute) et nous avons arbitrairement fixé la durée de ce choc pour le reste des expériences à 0,5 seconde.

3°) L'exploration préalable

Nous avons recherché si une habitude à l'appareil de quelques secondes à une minute, préalablement à toute punition dans l'appareil, pouvait modifier le comportement ultérieur des animaux.

a - Méthodes

Quarante souris ont été réparties au hasard en quatre groupes auxquels, avant le début des chocs, des temps d'exploration libre variables ont été permis : 0, 15, 30 ou 60 secondes. Nous avons compté pour chaque souris, minute par minute pendant cinq minutes, le nombre de traversées (punies).

b - Résultats et discussion

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 3. Il n'apparaît pas de différence importante entre les différents groupes pour des temps d'exploration inférieurs ou égaux à 1 minute.

Cependant, il nous a semblé qu'une exploration de 15 secondes faciliterait la conduite du test, et supprimerait quelques causes d'erreur :

- Un mouvement brusque de l'expérimentateur quand il tient la souris entre la cage et la boîte d'expérience fera reculer de quelques secondes le début de l'exploration ; attendre 15 secondes avant le début des chocs nous paraît pouvoir permettre d'atténuer cette cause de variabilité.
- En début d'expérience, après avoir posé la souris sur une plaque, l'expérimentateur doit fermer le couvercle de la boîte, mettre en route le chronomètre, en gardant une main sur le déclencheur de choc ; il nous a semblé que ces manœuvres faites avec précipitation étaient autant de facteurs qui pouvaient nuire à la régularité de l'expérience et qu'il fallait les éviter.

DUREE DE L'EXPLORATION PREALABLE en sec.	NOMBRE DE PASSAGES PENDANT LES CINQ PREMIERES MINUTES				
	1e	2e	3e	4e	5e
0	5,9	1,4	0,6	0,2	0,1
15	5,1	2,4	1,1	0,4	0,3
30	5,3	2,2	1,0	0,4	0,5
60	4,9	1,2	1,2	0,6	0,5

Variation du nombre des chocs selon la durée de l'exploration préalable.

Tableau 3

Au total :

Il nous a semblé que le choix :

- d'un intervalle d'exploration de 15 secondes
- d'un choc de durée 0,5 seconde et d'intensité 0,6 mA

permettrait d'obtenir chez les témoins un comportement régulier, reproductible, facile à quantifier et facile à reconnaître.

Problème de l'automatisation :

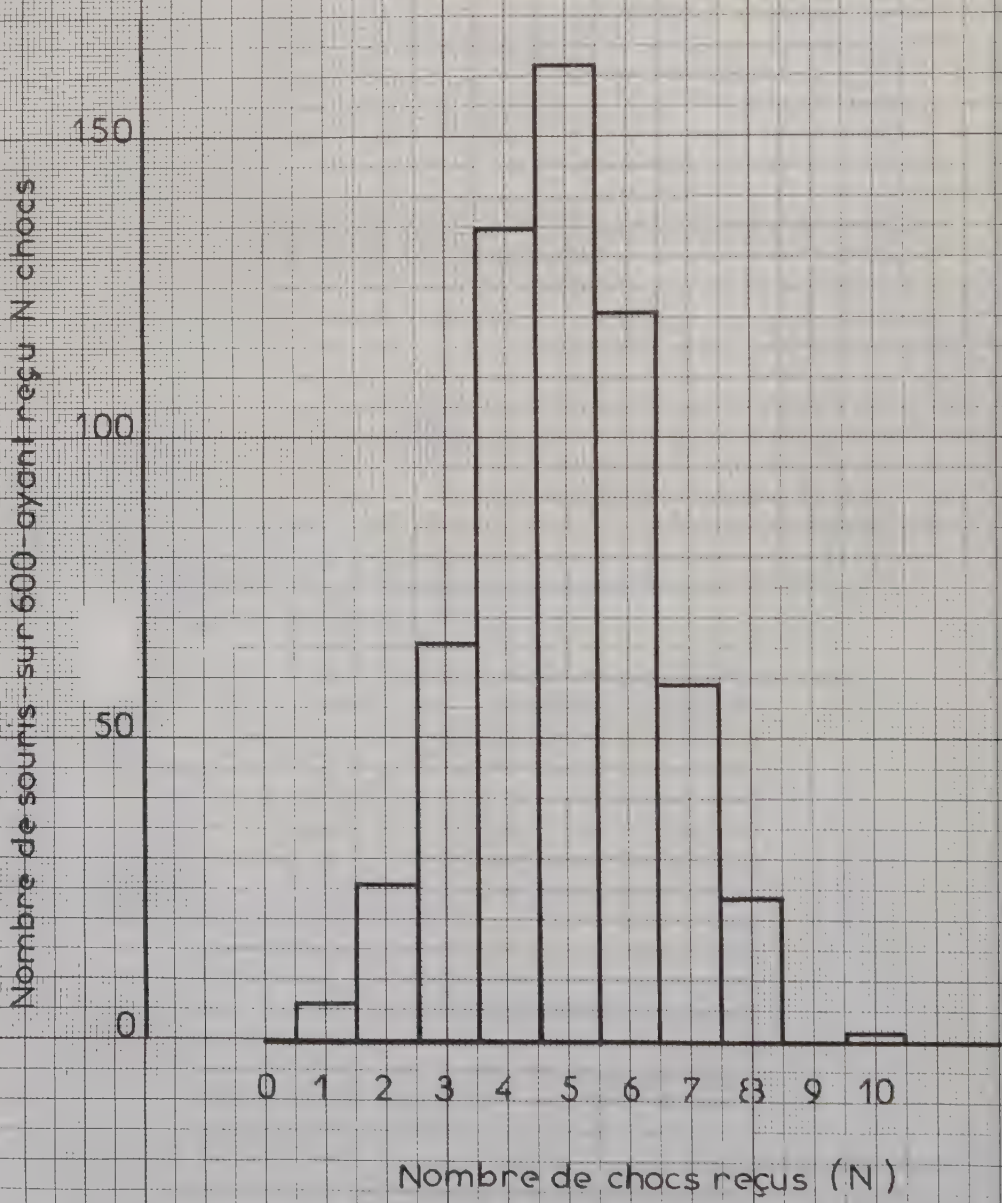
Le problème s'est posé alors d'automatiser ce test.

Nous n'avons pas trouvé de bon système pour déclencher automatiquement le choc, lorsque, et uniquement lorsque la souris est franchement en train de passer d'une plaque à l'autre, un déclenchement précoce ou tardif faussant toute l'expérience. Nous avons essayé de laisser l'appareil constamment électrifié. En observant le comportement des souris, il nous a semblé qu'elles pouvaient percevoir le courant (peut-être par leurs vibrisses) de façon non douloureuse, et qu'en conséquence elles évitaient de traverser, s'immobilisant, en ayant reçu peu de chocs évidents.

Par ailleurs, il nous a semblé que l'observation des souris avait l'intérêt certain de permettre une meilleure interprétation des résultats obtenus. Le manque d'objectivité de l'observateur est un inconvénient certain, mais pas trop important, nous semble-t-il, s'il ne sait pas quelles souris ont été traitées et à quelles doses, en d'autres termes, s'il opère en "aveugle".

Distribution des résultats pour 600 témoins.

Figure 2.



En résumé, il nous a semblé que si la durée du test pour chaque souris était courte, la non-automatisation ne présentait pas d'inconvénient majeur.

Dans les premiers essais de drogues, nous avons observé chaque animal pendant 10 minutes, et cherché, au vu des résultats, la durée nécessaire pour ce test.

LES TEMOINS

Normalité de la distribution des résultats

Les résultats des 600 premiers témoins observés pendant la première minute (les passages étant punis) sont explicités dans l'histogramme de la figure 2.

Malgré la limitation inférieure du nombre de chocs possibles (zéro), leur distribution semble se faire suivant une courbe de Gauss.

Le test de χ^2 affirme que la distribution ne se fait pas strictement suivant la loi normale ; en effet, les coefficients de Pearson nous apprennent que la courbe est symétrique, mais platicurtique.

Cependant, au vu d'une part de l'histogramme, et d'autre part de la droite de Henry, qui est presque confondue avec la droite de Henry théorique, construite sur une distribution de même moyenne, et de même écart type, il nous a semblé licite de considérer notre distribution comme suffisamment proche de la distribution normale, pour justifier l'emploi ultérieur du test t dans la comparaison des résultats de 10 à 12 animaux traités, à ceux de 10 à 12 témoins.

Etude des moyennes

Nous avons, à la fin des expériences, regardé l'évolution des moyennes des chocs reçus par les témoins, résumées dans le tableau 4 et constaté que, comme nous en avions l'impression, le nombre moyen de ces chocs augmentait régulièrement depuis huit mois.

Pour expliquer ce phénomène, nous avons soulevé de multiples hypothèses que nous avons dû éliminer l'une après l'autre :

- L'observateur-expérimentateur s'habitue : il réagit peu à peu autrement (plus vite). Le changement d'expérimentateur n'a cependant pas changé les moyennes.
- Il y a un cycle saisonnier. Irwin et Coll. (1968) l'ont prouvé dans un test d'évitement passif, et le phénomène n'est pas si rare en

Evolution du nombre moyen de chocs reçus
par les souris témoins.

	fév.	mars	avril	mai	juin	juillet	août	sept.	oct.
nombre de témoins	108	132	180	120	216	144	108	314	276
nombre moyen de chocs reçus	4, 15	4, 07	4, 40	4, 13	4, 71	5, 07	5, 12	5, 11	5, 96

Tableau 4

pharmacologie. Sur l'ensemble de nos expériences actuelles, les moyennes continuent à augmenter.

- Certaines constantes de l'appareil se modifient peu à peu. Des expériences ont été réalisées avec un autre appareil, les moyennes sont restées élevées.
- Certains caractères de l'élevage ou de la production des souris ont changé, modifiant ainsi la réactivité de nos souris. Nous avons utilisé avec l'appareil qui a servi à nos expériences, mais dans un autre laboratoire, des souris provenant du même élevage, et trouvé les résultats bas constants, habituels à ce laboratoire.

Devant cet ensemble de recherches négatives, nous pensons qu'il existe dans notre laboratoire, un facteur X, que nous ne contrôlons pas ; une odeur, une variation de température, d'éclairage, ou autre chose ... qui interfère avec les résultats.

Ceci nous a entreteⁿu dans notre décision, de faire toujours un lot de témoins avec tout produit essayé.

ETUDE DE QUELQUES SUBSTANCES

Au cours de cette étude préliminaire, nous avons recherché si sur ce test comportemental, les tranquillisants avaient une action différente de celle des psychotropes appartenant aux autres groupes de la classification.

- PRODUITS ETUDIES

Nous avons choisi, dans ce premier temps, d'étudier :

- des tranquillisants
 - Chlordiazepoxide - chlorhydrate - (Librium")
 - Diazepam (Valium")
 - Meprobamate ou Procalmadiol (Equanil")
- un hypnotique
 - Phénobarbital sodique (Gardénal")
- des neuroleptiques
 - Chlorpromazine - chlorhydrate - (Largactil")
 - Halopéridol (Halopéridol")
 - Réserpine (Serpasil")
- des psycho-analeptiques
 - . antidépresseurs imipraminiques
 - Imipramine - chlorhydrate - (Tofranil")
 - Clomipramine - chlorhydrate - (Anafranil")
 - . antidépresseur IMAO
 - Pargyline
- la d-amphétamine - sulfate -
- un analgésique central
 - Morphine - chlorhydrate -

- METHODES

Administration de produits

Tous les produits ont été injectés par voie intra-péritonéale (i. p.) 30 minutes avant le début du test. Seules, la Pargyline et la Réserpine ont été injectées 24 heures avant. Toutes ces substances étaient mises en solution ou en suspension aqueuse de telle sorte que les souris reçoivent toutes 0,5 ml. de liquide pour 20 g. de poids corporel, les suspensions ont été réalisées à l'aide de gomme arabique.

Les témoins ont toujours reçu le solvant dans les mêmes conditions expérimentales:

Les doses ont été choisies suivant une progression géométrique de raison 2., en général voisines des doses actives sur d'autres tests.

Paramètres retenus

Le test a donc été conduit avec les paramètres suivants :

- 15 secondes d'exploration préalable
- choc électrique de 0,5 seconde, d'intensité 0,6 mA.

et on a compté minute par minute pour chaque souris pendant 10 minutes le nombre de passages punis.

Protocole expérimental

Chaque dose de chaque produit a été injectée à au moins 10 (ou 12) souris et les résultats comparés aux témoins du même jour, la significativité d'une éventuelle augmentation étant évaluée pour la première minute à l'aide d'un test t, à $p < 0,05$.

- RESULTATS

Ils sont résumés pour les tranquillisants et hypnotiques dans le tableau 5, pour les neuroleptiques dans le tableau 6 et pour les psychoanaleptiques et la morphine dans le tableau 7.

A - Les tranquillisants

Les tranquillisants choisis (Diazepam, Chlordiazepoxide et Méprobamate) ont tous, à une ou plusieurs doses, augmenté significativement le nombre de passages punis des souris. Ceci est très net à la première minute, encore visible à la seconde, mais cet effet disparaît à partir de la troisième minute ; les animaux ont appris alors, comme les témoins, à ne plus bouger.

B - Les hypnotiques

A ces doses élevées, connues pour entraîner des phénomènes d'excitation et d'incoordination, l'effet du phénobarbital nous est apparu superposable à celui des tranquillisants : même augmentation du nombre de chocs subis pendant les premières minutes, même disparition de cet effet dans les minutes suivantes.

C - Les neuroleptiques

Les neuroleptiques n'ont jamais augmenté significativement le nombre de chocs reçus par les souris ; aux doses très fortes, connues pour diminuer globalement l'activité des souris, le nombre de passages a été diminué.

D - Les antidépresseurs

Aucun des antidépresseurs choisis, n'a modifié significativement le comportement des animaux.

N	Dose mg/kg	Nombre de passages punis pendant les dix premières minutes									
		1e mn	2e mn	3e mn	4e mn	5e mn	6e mn	7e mn	8e mn	9e mn	10e mn
210 Témoins		4	1, 2	0, 7	0, 5	0, 5	0, 5	0, 4	0, 2	0, 2	0, 2
10 Chlordiazep-	1	4, 7	1, 1	0, 5	0, 5	0	0, 5	0	0, 2	0, 1	0
12 oxyde	2	5, 6	1, 2	1, 1	1, 1	0	1, 1	0	0	0	0
12	4	5, 2	1, 2	0, 7	0, 3	0, 6	0, 6	0, 5	0	0, 5	0
24	8	6, 7*	1, 2	0, 9	0, 3	0, 1	0, 3	0, 4	0, 1	0, 1	0
21	16	7, 2*	2	0, 7	0, 3	0, 1	0, 4	0, 3	0, 1	0, 1	0
22	32	4, 5	1, 3	1, 1	2	0, 1	0	0	0	0, 2	0, 6
23 Diazepam	0, 5	4, 7	1, 2	0, 5	0, 2	0, 2	0, 1	0, 1	0, 1	0	0
12	1	9, 6*	3, 5	1, 7	1, 1	1, 2	1, 7	1	0, 2	0, 2	0, 5
12	2	9, 9*	2, 1	0, 3	0, 7	0, 5	0, 2	0, 4	0, 2	0, 1	0, 3
12	4	10, 1*	2, 7	0, 7	1, 1	0, 4	0, 6	0, 3	0, 3	0	0, 4
7	8	2, 5	0	0	0	0	0	0	0	1, 3	0
12 Meprobamate	50	4, 8	1, 7	0, 3	0, 3	0, 7	0, 2	0, 2	0, 2	0, 1	0, 2
12	100	13, 1*	5, 8	1, 4	1, 2	1, 2	1, 7	0, 8	0, 6	1	1, 2
12	200	9, 6*	7, 4	1, 3	0, 3	0, 4	2, 4	1, 6	0, 6	0, 7	1, 7
12 Phénobarbital	4	4, 9	1, 9	0, 7	0, 3	0, 2	0, 4	0, 4	0, 1	0, 1	0
12	8	5, 4	2, 3	1, 2	1, 9	1, 6	1, 4	0, 5	0, 7	0, 7	0, 3
12	16	6	1, 8	1, 5	0, 9	0, 7	0, 5	0, 1	0, 4	0, 1	0
12	32	8, 8*	2, 4	2, 2	1, 4	0, 7	0, 7	0, 6	0, 1	0, 9	0, 1

N = nombre de souris par lot

* significativement supérieur aux témoins à $p < 0, 05$

Effet des neuroleptiques sur le nombre de passages punis

N	Dose mg/kg	Nombre de passages punis pendant les dix premières minutes									
		1e mn	2e mn	3e mn	4e mn	5e mn	6e mn	7e mn	8e mn	9e mn	10e mn
210	Témoins	4	1, 2	0, 7	0, 5	0, 5	0, 5	0, 4	0, 2	0, 2	0, 2
12	Chlorpro-	3, 7	1	1	0, 1	0, 5	0, 1	0, 1	0, 1	0, 1	0
12	mazine	3, 5	0, 7	0, 2	0, 6	0	0	0, 1	0, 1	0	0
12		2, 7	0, 9	0, 1	0, 1	0, 1	0, 1	0, 1	0	0	0
10		3, 1	0, 8	0, 2	0, 2	0	0	0	0	0	0
12	Halopéridol	3, 3	1	0, 7	1	0, 1	0, 1	0, 1	0, 1	0, 2	0, 2
12		3, 5	0, 2	1, 1	0, 5	0, 4	0, 1	0, 1	0, 2	0	0, 1
12		2, 9	0, 4	0, 2	0, 2	0, 2	0, 3	0, 1	0	0, 1	0
12		3, 4	0, 9	0, 3	0, 7	0, 3	0, 4	0, 7	0, 4	0, 3	0, 1
12		1, 6	0, 1	0, 3	0, 6	0, 1	0, 4	0, 1	0, 1	0, 4	0, 2
12	Réserpine	3	1, 1	0, 1	0, 7	0, 8	0, 2	1	1	0, 9	0, 4
12		5, 7	1, 1	0, 7	0, 6	0, 4	0, 4	0, 2	0, 6	0, 2	0, 6
12		5, 1	0, 9	1	0, 6	0	0, 5	0, 3	0, 4	0, 4	0, 2
12		4, 1	1, 2	0, 5	0, 3	0, 4	0, 9	0, 2	0, 1	0, 9	0, 1
12		1, 4	0, 6	0, 4	0, 8	1	0, 8	0	0	0	0

N = nombre de souris par lot.

Tableau 6

Effet des psychoanaleptiques et de la morphine sur le nombre de passages punis.

N	Dose mg/kg	Nombre de passages punis pendant les dix premières minutes									
		1e mn	2e mn	3e mn	4e mn	5e mn	6e mn	7e mn	8e mn	9e mn	10e mn
210 Témoins		4	1, 2	0, 7	0, 5	0, 5	0, 5	0, 4	0, 2	0, 2	0, 2
12 d-amphétamine	0, 5	4, 1	1, 3	0, 7	0, 5	0, 5	0, 1	0, 3	0, 4	0, 5	0, 2
12	1	3, 9	1, 6	1	0, 5	0, 5	0, 5	0, 2	0, 1	0	0, 8
12	2	4, 4	1, 2	0, 4	0, 2	1	0, 4	0, 4	0, 1	0, 2	0
10	4	4, 5	2, 3	1, 3	1, 6	0, 9	0, 7	0, 4	0, 4	0, 8	0, 3
12 Imipramine	8	3, 9	1, 3	0, 7	0, 7	0, 7	0, 1	0, 1	0, 1	0, 1	0, 5
12	16	3, 9	1, 4	0, 3	0, 2	0, 3	0, 1	0	0	0, 1	0
12 Clomipramine	4	4	1, 6	1, 1	0, 7	0, 2	0, 2	0, 1	0	0, 3	0, 7
12	8	3, 7	1, 5	0, 7	0, 7	0, 1	0, 1	0, 1	0	0, 1	0
12	16	4, 1	1, 7	0, 5	0, 1	0, 1	0, 1	0	0, 1	0, 1	0, 1
12 Pargyline	100	4, 1	1, 2	0, 5	0	0, 3	0, 6	0, 1	0, 2	0	0, 1
12	200	4, 3	1, 2	0, 3	0, 5	1	0, 3	0, 2	0, 1	0, 1	0, 2
12 Morphine	2	3, 5	0, 6	1	0, 3	0, 2	0, 3	0	0, 3	0	0
10	4	2, 2	1	0, 4	0, 5	0, 5	0, 1	0, 2	0, 1	0, 2	0
11	8	2	0, 7	0, 4	0, 1	0	0, 4	0	0	0, 1	0

N = nombre de souris par lot.

Tableau 7

E - L'amphétamine

Aux doses où le comportement des souris restait organisé, nous n'avons pas pu mettre en évidence d'augmentation du nombre de passages punis. A 8 mg/kg., l'extrême agitation des souris rendait le test difficile à pratiquer, et les résultats ininterprétables.

F - La morphine

Elle a diminué significativement le nombre de passages punis.

- DISCUSSION

Nous ne discuterons ici que certains aspects de ces résultats, les autres points étant repris lors de la discussion générale de ce travail.

I - Il résulte de ces expériences que seuls, des tranquillisants et des hypnotiques ont augmenté le nombre de passages punis des souris, s'opposant en cela aux neuroleptiques, à la morphine, à l'amphétamine et aux antidépresseurs.

II - Cet effet des tranquillisants est particulièrement net à la première minute ; si l'on est seulement intéressé par l'utilisation de ce test pour le tri de molécules nouvelles, sa prolongation au delà de la fin de la première minute n'apporte pas d'information supplémentaire. Nous avons donc décidé pour les expériences ultérieures de ne pas prolonger le test au-delà de la première minute : il devient alors possible d'étudier 4 lots de dix animaux (trois doses d'un produit à étudier et des témoins) en une heure, ce qui rend le test abordable pour un éventuel "screening".

III - Il nous est apparu qu'il n'était pas possible d'interpréter ces résultats en l'absence d'une comparaison des effets des drogues dans le test aux effets de ces mêmes substances dans une situation d'exploration où les déplacements de la souris ne sont pas punis.

On peut penser qu'un produit qui augmenterait parallèlement les déplacements punis et non punis d'un animal aurait des propriétés et un mode d'action différents d'un produit qui ne modifierait que les déplacements punis d'une souris.

La simple observation fournit des éléments de réponse. Cependant pour l'étude plus approfondie du test qui va suivre, nous avons choisi, pour tous les produits qui augmenteraient le nombre de passages punis, de contrôler leur effet sur les déplacements des souris dans une situation où ces déplacements ne sont pas punis, mais simplement enregistrés.

Une telle mesure permet également de situer les doses efficaces sur le test par rapport aux doses entraînant l'apparition d'une sédation, ou de signes neurologiques, phénomènes auxquels les mesures de motilité sont très sensibles.

- EN RESUME, à la suite de cette étude préliminaire, le test des quatre plaques nous apparaît comme un test de tri possible des tranquillisants, dont il nous faut maintenant préciser la valeur.

ETUDE COMPLEMENTAIRE DU TEST

Pour juger de l'efficacité et de la sélectivité du test , nous avons étudié, d'une part de nombreuses substances prescrites en clinique comme tranquillisants et d'autre part des psychotropes appartenant à des groupes divers : hypnotiques, anti-épileptiques, anti-histaminiques, neuroleptiques, anti-dépresseurs, anti-parkinsoniens, non-analeptiques et psycho-stimulants, psychodysléptiques, et enfin divers produits auxquels on attribue des effets secondaires au niveau du système nerveux central.

Les substances ayant augmenté le nombre de passages punis au cours du test ont fait l'objet d'une étude complémentaire de la motilité sur la souris.

ANIMAUX UTILISES

Nous avons été conduits, à la suite d'évènements indépendants de l'expérience (épidémie dans l'animalerie) à changer de race de souris.

Dans cette deuxième partie du travail, nous avons utilisé des souris mâles pesant de 18 à 25 gr. , de souche Swiss (Charles River).

APPAREILS UTILISES

- TEST DES QUATRE PLAQUES

L'appareil utilisé est le même que celui décrit dans les expériences précédentes. Les expériences ont été réalisées avec les paramètres suivants :

- exploration préliminaire : 15 secondes
- durée du test avec chocs : 1 minute
- durée du choc : 0,5 seconde
- intensité du choc : 0,6 mA.

- Normalité du phénomène avec les nouvelles souris : nous avons vérifié avec la nouvelle souche de souris utilisée la normalité du phénomène ; il n'est pas apparu d'écart important avec la distribution normale, et en particulier, il n'est pas apparu deux populations de souris réagissant différemment dans le test.

- MESURE DE L'ACTIVITE MOTRICE

Il eut été logique d'étudier la motilité des souris pendant une minute, dans l'appareil même utilisé pour le test, en l'absence de chocs.

Cette étude aurait certes fourni la mesure la plus facilement comparable au nombre de passages punis dans ce même appareil. Cependant, la non-automatisation rendait la mesure difficile à effectuer, et les résultats subjectifs.

C'est pourquoi nous avons utilisé pour la détermination de cette activité un appareil de principe analogue aux cages de Dews (1953) décrit par Boissier et Simon (1965).

Cet appareil comporte six unités de mesure constituées pour chacune par une boîte en plexiglass (26 x 21 x 10 cm.) porteuse d'un couvercle en grillage métallique. Cette boîte est traversée par deux rayons lumineux perpendiculaires à 1 cm. au-dessus du plancher. Le rayon est capté par une cellule photo-électrique placée en regard, et reliée à un compteur automatique (2 compteurs par boîte). Lorsqu'une souris coupe un rayon lumineux, le compteur enregistre un mouvement.

Les compteurs ont été relevés cinq minutes après l'introduction des souris. Nous avons choisi cet intervalle de cinq minutes car nous désirions un intervalle de temps court, correspondant à la phase d'exploration initiale de cet entourage nouveau ; une minute, comme dans le test de quatre plaques aurait été préférable, mais le pourcentage d'erreur dû au temps qu'il faut pour introduire six souris dans six boîtes dont il faut fermer les six couvercles était trop élevé.

- ADMINISTRATION DES DROGUES : GENERALITES

Comme dans la première partie de ce travail, nous avons injecté toutes les substances choisies I. P. , 30 minutes avant le début du test, après les avoir mises en suspension à l'aide d'un sirop de gomme arabique dans l'eau ou en solution aqueuse, de telle sorte que les souris reçoivent 0,5 millilitre de liquide pour 20 grammes de poids corporel; les témoins ont toujours reçu le solvant dans les mêmes conditions expérimentales.

Douze souris par dose ont été étudiées pour le test des quatre plaques,

et six par dose pour la mesure de la motilité.

Quand les sels ont été utilisés, les doses exprimées sont les doses de sel.

- ECHELLE DE DOSES CHOISIE

Les doses ont été choisies selon une progression géométrique de raison 2, de 0,125 mg/kg à 512 mg/kg.

Les doses maximales nous ont été dictées par l'importance d'une sédation ou par l'apparition de phénomènes toxiques : convulsions, ataxie, démarche ébrieuse... Nous n'avons parfois essayé que trois doses encadrant celles connues pour leur activité sur d'autres tests. Il nous est aussi arrivé de n'essayer que trois doses plus largement réparties dans notre échelle de doses, et peut-être parfois avons-nous tiré des conclusions négatives de résultats pour n'avoir pas utilisé un intervalle de temps entre le traitement et le test ou des doses convenablement choisies.

RESULTATS

LES TRANQUILLISANTS

Nous avons choisi des produits utilisés en clinique dont les propriétés tranquillisantes ou décontracturantes sont généralement admises.

1°- Des benzodiazépines

chlordiazépoxide - chlorhydrate (Librium°)
diazepam (Valium°)
oxazepam (Seresta°)
tetrazepam

2°- D'autres appartenant à des classes chimiques diverses :

bénactyzine - chlorhydrate - (Benactyzine°)
butésamide (Moderil°)
captodiamine - chlorhydrate - (Covatine°)
clofénamide - chlorhydrate - (Keithon°)
clorazépate dipotassique (Tranxène°)
crésoxydiol (Décontractyl°)
diphencloxacine - chlorhydrate - (Olympax°)
dispranol
émylcamate -Statran°)
fluorésone (Bripadon°)

hydroxyphénamate
 hydroxyzine - dichlorhydrate - (Atarax°)
 méphénoxalone (Placidex°)
 méprobamate, procalmadiol (Equanil°)
 méthocarbamol (Lumirelax°)
 méthylpentynol - carbamate - (N-Oblivion°)
 phénaglycodol (Sinfortil°)
 thalidomide
 trimétosine (Trioxazine°)
 valnoctamide (Nirvanil°)

1 - Les benzodiazépines

Résultats

Pour les diverses benzodiazépines, les résultats sont résumés dans le tableau 8.

On observe une augmentation significative du nombre de traversées punies pour le diazepam aux doses de 1, 2 et 4 mg/kg, pour l'oxazepam aux doses de 4 et 8 mg/kg. et pour le chlórdiazépoxyde aux doses de 8 et 16 mg/kg.

A ces doses, la motilité n'était jamais significativement augmentée ; elle était même franchement diminuée pour le chlórdiazépoxyde (26 % et 13 % des témoins) ; à la limite des doses sédatives et relaxantes musculaires pour le diazepam (127 %, 90 %, 49 % des témoins), proche de ces doses aussi pour l'oxazepam (motilité à 91 % et 58 % des témoins).

Que représentent ces chiffres ? Il nous faut les relier aux données de l'observation des animaux.

a - Diazepam

. A 1 mg/kg.

Pendant les 15 premières secondes, rien ne distingue la souris d'un témoin ; au plus semble-t-elle un peu plus active dans son exploration qu'une autre.

Vient le premier choc. Elle crie et saute mais sa réaction apparaît un peu moins importante que celle d'un témoin ; on est tenté de vérifier alors si l'intensité du courant n'a pas baissé : non ! D'ailleurs, la souris s'immobilise quelques secondes. Elle repart cependant, avec peu de précautions, et reçoit un nouveau choc, qui la fait s'immobiliser à nouveau. Mais, elle ne semble pas apprendre. Elle repart encore et encore, et pendant cette minute, recevra jusqu'à deux fois plus de chocs que les témoins.

Doses (mg/kg I. P.)	0,5	1	2	4	8	16	32	64
CHLORDIAZEPO- XIDE		104	124 (81)	115 (56)	146* (26)	160* (13)	100	
DIAZEPAM	94 (106)	160* (127)	198* (90)	205* (49)	50			
OXAZEPAM		97	116	195* (91)	162* (58)	150 (37)		
TETRAZEPAM			97		120 (85)	150 (77)	140 (56)	102

* Significativement supérieur aux témoins.

Entre parenthèses, les chiffres de motilité en % des témoins

Tranquillisants : benzodiazépines
Passages punis en pour cent des témoins.

Tableau 8

. A 2 mg/kg.

Son polygone de sustentation est un peu élargi, l'ataxie existe, plus marquée au niveau des pattes postérieures. Pendant la durée du test, n'étaient ses pattes un peu écartées, on pourrait la confondre avec une souris traitée par 1 mg/kg. de diazépam.

. A 4 mg/kg.

La relaxation neuromusculaire est évidente, spontanément, l'animal bouge peu ; sa démarche est laborieuse et ralentie. La réaction au choc est franchement diminuée : peu de cris, peu de fuite.

Si les résultats des expériences précédentes n'avaient montré que, à partir de la 3ème minute, ces souris s'immobilisent autant que les témoins, on pourrait se demander, devant le manque de réactions de l'animal s'il a perçu le moindre choc.

Parfois, on observe un autre comportement : la souris se déplace, lentement, ne s'arrêtant qu'à peine après un choc, marche, marche comme un automate malgré les chocs successifs.

. Aux doses supérieures à 4 mg/kg, les souris ne bougent plus.

. Aux doses inférieures à 1 mg/kg., rien ne distingue les souris traitées des témoins.

b - Chlordiazépoxyde

A 8 et 16 mg/kg., les souris ont leur polygone de sustentation élargi, elles ne se meuvent spontanément que très lentement. Pendant le test, elles réagissent peu aux chocs, et ressemblent aux animaux traités par des doses importantes de diazépam.

c - Oxazépam

Le comportement des souris traitées par l'oxazépam est superposable à celui des animaux traités par le diazépam à dose moitié moindre.

d - Tétrazépam

Bien que l'augmentation du nombre de traversées n'ait pas été significative, l'observation des animaux évoque le comportement des souris traitées par les autres benzodiazépines, il faut ajouter que le jour de l'expérience, les témoins étaient plus dispersés qu'à l'habitude.

2 - Les autres tranquillisants

Résultats

Les résultats sont résumés dans les tableaux 9 et 10. Il apparaît que, parmi les 20 produits essayés, 6 ont au moins à une dose, augmenté le nombre de chocs reçus par les souris : la bémactazine à 2, 4, 8, 16 mg/kg. ; l'émylcamate à 64, 128, 256 mg/kg., l'hydroxyphénamate à 128 mg/kg., le méprobamate à 64 et 128 mg/kg., le phénaglycolol à 128 mg/kg. et la trimétosine à 32 mg/kg.

Discussion

a - La bémactazine aux doses actives sur le test, ne modifie pas la motilité des souris. A l'observation, il n'apparaît pas de modification évidente du comportement des animaux. Ils semblent très réactifs à la moindre stimulation. Aucune ataxie n'est observée.

b - L'émylcamate a été trouvé actif sur le test entre 64 et 256 mg/kg. A 64 mg/kg., les souris semblent normales mais un peu lentes dans leurs mouvements. Lors des chocs, elles crient mais ne fuient pas. Quand on atteint 256 mg/kg., leur centre de gravité est franchement abaissé ; elles ont un comportement adapté : elles

Doses (mg/kg IP)	1	2	4	8	16	32	64	128	256
BENACTYZINE	99	188 [*]	210 [*] (97)	261 [*] (104)	199 [*] (102)				
EMYLCAMATE						137 (59)	201 [*] (101)	215 [*] (76)	183 [*]
HYDROXYPHENAMATE							134 (91)	194 [*] (106)	63 (47)
MEPROBAMATE						100	148 [*] (128)	244 [*] (122)	
PHENAGLYCODOL						143	163	178 [*] (65)	133 (10)
TRIMETOSINE			89	113	130 (62)	150 [*] (58)	140	83	70

* Significativement supérieur aux témoins

Entre parenthèses, les chiffres de motilité en % des témoins.

Tranquillisants non benzodiazépiniques actifs sur le test
Passages punis en pourcent des témoins.

Tableau 9

Doses (mg/kg IP)	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
BUTESAMIDE		72	123	80	79						
CAPTODIAMINE							58	67	59		
CLOFENAMIDE			75	92	60	48	45	45			
CLORAZEPATE	87	82	89	120	62	74					
CRESOXYDIOL						62	86	85	81	60	
DIPHENCLOXAZINE			62	68	52	123	141				
DISPRANOL					78	98	104	78	82	109	
FLUORESONE							126	135	130	85	
HYDROXYZINE				112	92	75	61	79			
MEPHENOXALONE									95	140	85
METHOCARBAMOL							75	80	90	93	81
METHYLPENTINOL					81		69	78	85		
THALIDOMIDE				104		93	68				
VALNOCTAMIDE					103				109		

Tranquillisants non benzodiazépinniques.

Passages punis en pourcent des témoins.

explorent les objets, s'arrêtent au bord de la table, etc ... Dans la boîte, quand chaque traversée d'une plaque à une autre est punie, elles marchent par périodes, comme des automates, recevant alors plusieurs chocs, s'arrêtent un long moment puis repartent. Les résultats à cette dose résultent d'un comportement qui semble différent de celui qu'on observe aux doses inférieures.

c - L'hydroxyphénamate : à 128 mg/kg., dose augmentant franchement le nombre de passages punis de la souris, la motilité n'est pas modifiée. A cette dose, on observe une certaine relaxation musculaire visible par l'aspect aplati des animaux. Pendant les chocs, on observe un minimum de réactions : un petit cri, une accélération du mouvement ; la souris reçoit plusieurs chocs à intervalle de temps court, puis s'arrête un long moment et ensuite reprend.

d - Le méprobamate : à 64 et 128 mg/kg., doses actives sur le test, la motilité est augmentée ; l'observation montre une agitation certaine, parfaitement bien coordonnée, d'ailleurs. Pendant le test, les souris réagissent un peu moins au choc que les témoins, et on peut penser que propriété tranquillisante et excitation motrice se conjugent pour expliquer les résultats obtenus.

e - Le phénaglycodol : à 128 mg/kg., les souris sont un peu ataxiques ; et lors de la marche, elles balancent exagérément leur train postérieur. Lors des chocs, elles courent peu mais émettent de nombreux cris. A cette dose, la motilité est légèrement diminuée par rapport aux témoins (65 %). Aux doses inférieures, l'augmentation du nombre de chocs n'est pas significative. Les résultats dispersés sont peut-être à mettre sur le compte d'une extrême variabilité de la sensibilité des animaux à cette substance, mais plus probablement sur celui de la difficulté que nous avons eu à réaliser une suspension homogène de phénaglycodol.

f - La trimétosine : à 32 mg/kg., les souris ne présentent pas de modifications importantes du comportement, si ce n'est un ralentissement ; leur motilité est alors de 58 % de celle des témoins.

HYPNOTIQUES

Nous avons choisi quelques barbituriques :

- le phénobarbital (Gardénal^{*}) qui est connu en clinique humaine pour ses propriétés sédatives et tranquillisantes à doses faibles.
- l'amobarbital sodique (Eunoctal^{*}), en raison de la fréquence de son emploi dans les études de psychologie expérimentale ;

Doses (mg/kg IP)	1	2	4	8	16	32	64	128
PHENOBARBITAL			100	106	108	160* (139)	(146)	
BUTOBARBITAL			96	220* (67)	242* (86)	251* (94)	127 (61)	
AMOBARBITAL		95		100		85		
MECLOQUALONE	100		77	59	68	87		
METHAQUALONE		67	99	95	95	104	104	
CHLORAL				129	123	125	169* (88)	240* (96)

* Significativement supérieur aux témoins à $p < 0,05$

Entre parenthèses : motilité

Hypnotiques

Passages punis en pourcent. des témoins

Tableau 11

il modifie en particulier des conditionnements inhibiteurs dans lesquels on peut ranger notre test.

- le butobarbital

Nous avons également étudié quelques hypnotiques non barbituriques :

- la mécloqualone (Nubarène^{*})
- la méthaqualone (Toraflon^{*}) et
- le chloral

Résultats

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 11. Le phénobarbital, le butobarbital et le chloral ont significativement augmenté le nombre de passages punis.

Discussion

Le phénobarbital n'a augmenté le nombre de traversées punies qu'à une dose où il s'accroît de manière importante (139 % des témoins) la motilité. En ce cas, il semble bien que les résultats du test ne reflètent que l'excitation des animaux.

Le butobarbital et le chloral ont accru le nombre de passages punis à des doses modifiant peu la motilité.

ANTI-EPILEPTIQUES

Nous avons étudié huit anti-épileptiques :

- la phénytoïne (Dihydan^{*})
- la méphénytoïne (Sedanloïnal^{*})
- la triméthadione (Tridione^{*})
- la primidone (Mysoline^{*})
- la phensuximide (Lifène^{*})
- l'éthosuximide (Zarontin^{*})
- le phénylacétylurée (Epiclase^{*})
- le béclamide (Posédrine^{*})

Résultats et discussion

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 12.

Le phénobarbital que nous avons étudié avec les hypnotiques s'est révélé actif à des doses excitantes.

La méphénytoïne à 64 et 128 mg/kg. a significativement augmenté le nombre de passages punis et à ces doses, n'a pas eu d'effet sur la motilité.

Le béclamide a été actif sur le test à 256 mg/kg. qui est une dose importante ; l'observation a révélé qu'à cette dose, les souris placées dans l'appareil marchaient comme des automates, sans s'arrêter.

Pour ces deux raisons, ce résultat nous paraît refléter un phénomène différent des autres produits également actifs sur le test, et nous considérons que ce résultat n'a pas de valeur.

La phénylacétylurée a augmenté le nombre de passages punis à 128, 256 et 512 mg/kg. A 128 et 256 mg/kg., le comportement des souris était semblable à celui d'animaux traités par 1 mg/kg. de diazépam. A 512 mg/kg. par contre est apparu ce comportement automatique curieux, que nous avons observé à de très hautes doses de diazépam ou de béclamide.

Doses (mg/kg.) I.P.	8	16	32	64	128	256	512
PHENYTOINE	147	147	147	147	167		
MEPHENYTOINE	129	114	142	186* (102)	152* (105)		
PRIMIDONE		126		108		102	
TRIMETHADIONE			127	99	110	80	
PHENSUXIMIDE			106	90	96	97	
ETHOSUXIMIDE			83	62	85	36	
BECLAMIDE		106		121	123	175*	
PHENYLACETYL- UREE			89	100	157* (129)	243* (86)	341* (105)

* Statistiquement supérieur aux témoins ($p. < 0,05$)

Entre parenthèses : motilité en % des témoins

Anti-Epileptiques

Nombre de passages punis (en pourcentage des témoins)

Tableau 12

LES ANTI-HISTAMINIQUES

L'effet sédatif des anti-histaminiques est habituellement reconnu en clinique ; certains même leur prêtent des effets tranquillisants ; cependant, une étude systématique de divers anti-histaminiques à l'aide de tests couramment utilisés en psychopharmacologie n'a pu permettre la mise en évidence indiscutable de cette propriété (Rault).

Nous avons étudié cinq anti-histaminiques appartenant à diverses classes chimiques :

- alimémazine (Théralène°)
- diphenhydramine - chlorhydrate - (Benadryl°)
- prométhazine (Phénergan°)
- oxomémazine - chlorhydrate - (Doxergan°)
- pimétixène

Résultats

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 13.

La diphenhydramine et la prométhazine se sont révélés actifs sur le test ; le comportement des souris est semblable à celui observé après de faibles doses de diazépam ; la motilité n'est pas modifiée, sauf peut-être par la diphenhydramine qui, à 8 mg/kg., donne une légère excitation motrice.

Tableau 13

Doses (mg/kg.) I.P.	2	4	8	16	32	64
ALIMEMAZINE	75	96	108	84		
DIPHENHYDRAMINE		166* (101)	155* (120)	108	127	100
OXOMEMAZINE		103	121	73	91	
PIMETIXENE			80		84	
PROMETHAZINE		125	157* (81)	100 (66)	141 (30)	92

* Significativement plus grand que les témoins

Entre parenthèses : motilité

Anti-histaminiques

Nombre de passages punis en pourcentage des témoins

LES NEUROLEPTIQUES

Les neuroleptiques sont souvent prescrits à faible dose comme anxiolytiques ; et plus particulièrement la fluphénazine. Une modification par la réserpine des comportements animaux dans des situations de conflit a parfois été décrite.

Nous avons choisi des neuroleptiques appartenant aux diverses classes chimiques :

- dérivés des phénothiazines
 - chlorpromazine - chlorhydrate - (Largactil°)
 - fluphénazine - dichlorhydrate - (Moditen°)
 - lévomépromazine - chlorhydrate - (Nozinan°)
 - thioridazine - chlorhydrate - (Melleril°)
 - mésoridazine - napadisylate - (Lidanil°)
- dérivés de la butyrophénone
 - halopéridol (Halopéridol°)
 - pimozide
- et trois substances réputées neuroleptiques mais appartenant à des séries chimiques différentes
 - réserpine (Serpasil°)
 - sulpiride (Dogmatil°)
 - molindone

Résultats

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 14.

Aucun neuroleptique, même aux doses faibles utilisées n'a augmenté le nombre de passages punis. A aucune dose, les modifications du comportement des souris n'ont évoqué celles produites par les tranquillisants.

Aux doses élevées, qui diminuent la motilité des souris, le nombre de passages punis a été parallèlement diminué.

Nous avons recherché les effets de l'administration répétée de réserpine (0,25 mg/kg.) pendant 5 jours consécutifs, et pratiqué l'expérience le 6ème jour. Aucune modification du nombre de passages punis n'a été notée.

Doses (mg/kg.) I.P.	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
CHLORPROMAZINE			100	100	94	90	84	75						
FLUPHENAZINE				94	78	56								
LEVOPROMAZINE					88	87	46							
THIORIDAZINE							74	67	74					
MESORIDAZINE							82	67	55	39	61			
HALOPERIDOL	95	100	82	96	50									
PIMOZIDE					95	125	90	72						
RESERPINE			75	130	125	102	33							
RESERPINE (pendant 5 jours)				90										
CULPIRIDE										62** (93)		72 (89)		28** (89)
MOLINDONE						77	76	73	63					

** Significativement inférieur aux témoins - Entre parenthèses : motilité en % des témoins.

Neuroleptiques

Nombre de passages punis en pourcentage des témoins.

Doses mg/(kg.) I.P.	2	4	8	16	32	64	128	256
PARGYLINE			105		119	105	117	110
IPRONIAZIDE						88	105	97
DIBENZEPINE	83		55	65	85	70		
IMIPRAMINE			98	98				
CLOMIPRAMINE		100	113	112	109			
AMITRIPTYLINE	80	103	147* (87)	159* (76)	110			

* Significativement supérieur aux témoins

Entre parenthèses : motilité exprimée en pourcentage des témoins

Anti-dépresseurs

Nombre de passages punis exprimés en pourcentage des témoins

Tableau 15

LES ANTI-DEPRESSEURS

Nous avons étudié :

quatre thymo-analeptiques tricycliques

- la dibenzépine - chlorhydrate (Novenil^{*})
- l'imipramine - chlorhydrate - (Tofranil^{*})
- la clomipramine - chlorhydrate - (Anafranil^{*})
- l'amitryptiline - chlorhydrate - (Elavil^{*}, Laroxyl^{*})

et deux thymérétiques ou IMAO

- l'iproniazide (Marsilid^{*})
- la pargyline (Eutonyl^{*})

Résultats

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 15.

Il apparaît que seule l'amitryptiline à 8 et 16 mg/kg. a augmenté le nombre de passages punis, et qu'à ces doses, elle diminue un peu la motilité (à 87 % et 76 % des témoins).

LES ANTI-PARKINSONIENS

Nous en avons étudié cinq :

- atropine - sulfate -
- scopolamine - bromhydrate -
- trihéxyphénidyle - chlorhydrate - (Artane^{*})
- diéthazine - chlorhydrate - (Diparcol^{*})
- procyclidine - chlorhydrate - (Kémadrine^{*}).

Résultats

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 16.

Il apparaît que seul le trihéxyphénidyle a régulièrement augmenté de façon significative le nombre de passages punis ; cette action peut être mise en parallèle avec l'action excito-motrice de cet anti-parkinsonien.

Doses (mg/kg.) I.P.	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
ATROPINE		95		122		126				
SCOPOLAMINE	100	113	125	140	89	94				
DIETHAZINE							110		114	128
PROCYCLIDINE							119		135	102
TRIHEXYPHENIDYLE		118	117 (112)	167* (124)	177* (135)	178* (154)	187* (157)	185* (178)	200* (152)	146* (135)

* Significativement supérieur aux témoins
Entre parenthèses : motilité

Anti-parkinsoniens

Nombre de passages punis en pourcentage des témoins.

LES NOOANALEPTIQUES ET LES PSYCHOSTIMULANTS

Nous en avons étudié cinq :

- d-amphétamine - sulfate -
- dl parachloro N méthylamphétamine - bromhydrate - (pCMA)
- pémoline (Deltamine^{*})
- cocaïne - chlorhydrate -
- caféïne

Résultats

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 17.

Il en ressort que la caféïne, la cocaïne et la d-amphétamine n'ont significativement augmenté le nombre de passages punis dans le test qu'à des doses suffisamment importantes pour doubler la motilité ; et que la pCMA a augmenté ce nombre de passages même à des doses qui ne modifiaient pas la motilité ; la pémoline a été essayée jusqu'à une dose doublant juste la motilité : à cette dose, le nombre de passages punis était augmenté mais à la limite de la significativité.

Doses (mg/kg.) I.P.	0,5	1	2	4	8	16	32
D-AMPHETAMINE	120	118 (144)	130 (161)	141 [*] (216)	175 [*] (310)		
PARA CHLORO - METHYL- AMPHETAMINE		131	146 [*] (90)	150 [*] (119)	264 [*] (174)	214 [*] (445)	272 [*] (516)
PEMOLINE			111	109	147 (120)	66 (160)	137 (200)
COCAÏNE			81	81 (155)	145 [*] (216)	80 (379)	173 [*] (664)
CAFEINE			121	117 (131)	153 [*] (246)	133 (273)	153 [*] (267)

* Significativement supérieur aux témoins à $p < 0,05$.

Entre parenthèses : motilité

Nooanaleptiques et psychostimulants

Nombre de passages punis en pourcentage des témoins

Tableau 17

Doses (mg/kg.) I.P.	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
ASPIRINE								101	72	133
DEXTROMORAMIDE	107	85	123	63						
DEXTROPROPOXYPHENE		125	131	105	110	105				
MORPHINE			83	55*	50*					
PETHIDINE					96	89	114			

Nombre de passages punis en % des témoins

Analgésiques

Tableau 18

LES ANALGESIQUES

Pour certains auteurs (Boissier, 1962), les analgésiques centraux pourraient, par certains de leurs effets, être considérés comme tranquillisants.

Avec l'idée que par ailleurs, des analgésiques devaient certainement modifier les résultats d'un test où la douleur doit jouer un très grand rôle, nous avons étudié un analgésique périphérique : l'aspirine, et des analgésiques centraux :

- dextromoramide - bitartrate - (Palfium°)
- dextropropoxyphène - chlorhydrate - (Antalvic°)
- morphine - chlorhydrate -
- péthidine - chlorhydrate - (Dolosal°)

Résultats

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 18.

Il apparaît que, contrairement à ce que l'on aurait pu penser, les analgésiques ont très peu modifié le comportement des animaux traités.

Cependant, la morphine se distingue des autres par une diminution du nombre de chocs reçus.

Doses (mg/kg.) I.P.	0,125	0,25	0,50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
LYSERGAMIDE		87	110	118									
DITRAN			134	132	132	151	149*	172*					
METHISERGIDE				118		102		67					
YOHIMBINE							60**	64**					
ESERINE	86	58**	63**	31**									
α METHYL-DOPA										114	93	97	112
PRENYLAMINE							92	86					
METOCLOPRAMIDE					81		56	51					
PROPRANOLOL						132	130	130	134				
PARACHLORO PHENYLALANINE (per os)												104	
METHYL PARA TYROSINE											95		

* Significativement supérieur aux témoins

** Significativement inférieur aux témoins

Diverses substances

Nombre de passages punis en pourcentage des témoins

DIVERS

Nous avons étudié quelques autres substances :

- le lysergamide,
- le N éthyl 3 pipéridylphénylcyclopentyl (Ditran[°]) en raison de ses importantes propriétés anti-cholinergiques centrales
- le méthysergide (Désernyl[°]) un anti-sérotinine
- la yohimbine - chlorhydrate - inhibitrice des récepteurs α adrénergiques, en raison de ses propriétés anxiogènes connues chez l'homme,
- l' α méthyldopa, pour son action centrale qui s'apparente aux neuroleptiques,
- la prénylamine - lactate - (Ségotine[°]) qui possède des propriétés sédatives,
- le métoclopramide, "réputé modificateur des comportements digestifs" dont la structure et l'activité pharmacologique sont proches du sulpiride, (Primperan[°])
- le propranolol - chlorhydrate - (Avlocardyl[°]) inhibiteur des récepteurs β adrénergiques,
- l'ésérine - salicylate - comme "cholinergique central"
- la parachlorophénylalanine - chlorhydrate - qui inhibe la synthèse de sérotonine,
- l' α méthylparatyrosine - chlorhydrate-, comme inhibiteur de la tyrosine-hydroxylase donc de la synthèse des catécholamines

Résultats

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 19.

Le Ditran s'est révélé actif à 8 et 16 mg/kg. ; l'ésérine a significativement diminué le nombre de passages punis.

Les autres produits n'ont pas montré d'activité sur le test.

DISCUSSION GENERALE

Avant de discuter la valeur du test des quatre plaques pour le tri des tranquillisants un certain nombre de questions doivent être posées :

- Quels effets demande-t-on à un tranquillisant en thérapeutique ?
- Existe-t-il chez l'animal des modifications du comportement ressemblant à celles des malades auxquels on prescrit des tranquillisants ?
- Plus précisément le comportement des animaux induit par la situation particulière du test des quatre-plaques évoque-t-il des troubles humains ?

Ce n'est qu'après avoir cherché une réponse à ces questions que nous essayerons d'évaluer les avantages et les inconvénients que présente ce test, et de comprendre quels sont les mécanismes qui sous-tendent l'effet des substances actives sur le test.

LES TRANQUILLISANTS ET LEUR UTILISATION CHEZ L'HOMME

Dans la classification de Delay (Delay, 1961) les tranquillisants sont situés parmi les psycholeptiques, substances qui diminuent l'activité mentale. Dans ce même groupe, on trouve les hypnotiques et les tranquillisants.

Les neuroleptiques forment une classe bien définie par cinq caractères : ils créent un état d'indifférence psycho-motrice spéciale, sont efficaces vis-à-vis des états d'excitation ou d'agitation, réduisent progressivement des troubles psychotiques aigus et chroniques, entraînent l'apparition de syndromes extra-pyramidaux et végétatifs, et leur effet s'exercerait de manière prédominante à un niveau sous-cortical.

Les hypnotiques sont caractérisés par leur action essentielle sur la fonction du sommeil et les tranquillisants par leur action sédatrice sur la tension émotionnelle et l'anxiété.

Cependant, la limite entre les hypnotiques et les tranquillisants semble parfois un peu arbitraire, certaines substances, en effet, selon la posologie et la répartition des doses dans la journée, exercent des propriétés soit hypnotiques, soit tranquillisantes.

Dans le manuel de pharmacologie de Goodman et Gilman (1965), Jarvik classe ce que nous appelons "tranquillisants" dans le chapitre "Substances utilisées dans le traitement de l'anxiété", par opposition aux neuroleptiques, classés "substances utilisés dans le traitement des psychoses".

Irwin (1968) intitule un chapitre consacré à ces mêmes produits "anti-neurotics" (anti-névrose).

Reprenons les idées contenues dans ces diverses appellations

Produits utilisés dans le traitement de l'anxiété ? Mais qu'est-ce que l'anxiété ?

D'après le dictionnaire Larousse, c'est "un sentiment pénible d'insécurité, causé principalement par l'attente d'un danger imminent ou indéterminé ... Elle est un symptôme de la plupart des névroses et des psychoses".

Il existe en effet divers types d'anxiété appartenant à divers états pathologiques, et dont l'expérience clinique nous montre qu'ils sont sensibles à diverses thérapeutiques : l'anxiété des dépressions disparaît par le seul traitement anti-dépresseur, celle des schizophrènes peut disparaître sous l'effet des neuroleptiques, celle des névroses est bien contrôlée par les tranquillisants ou les barbituriques (Sharpless, 1965) ou même par certains neuroleptiques à dose faible (Rickels et coll., 1968).

Pourrions-nous appeler les tranquillisants "anti-névrose" ? En réalité, dans le cas des névroses, leur effet bénéfique ne porte que sur un symptôme cible : l'anxiété ; ils se révèlent presque toujours incapables de modifier la structure de la névrose, ce ne sont pas les seuls psychotropes utilisés dans le traitement des névroses.

Une classe de médicament peut-elle être individualisée pour ces substances ?

Pharmacologiquement, il est qualitativement difficile de différencier un hypnotique d'un tranquillisant (Sharpless) ; les tranquillisants à dose suffisante sont sédatifs, et même souvent hypnotiques, et les hypnotiques à dose faible sont anxiolytiques (Lehmann, 1968). C'est pourquoi certains ont la notion que l'effet tranquillisant n'est qu'un effet sédatif. Les thérapeutes nous font remarquer cependant qu'on peut utiliser certaines de ces substances à des doses ne provoquant aucune sédation cliniquement observable, et obtenir néanmoins un effet anxiolytique évident. On peut aussi se demander si les deux

propriétés sont indissociables, ou si on ne les trouve associées que parce qu'on a cherché tous les tranquillisants parmi les produits sédatifs ...

En définitive, on attend, semble-t-il, d'un tranquillisant, qu'il réduise l'anxiété, ou certaines réactions excessives "des nerveux" ou "des émotifs", ou bien qu'il diminue l'anxiété considérée comme symptôme, dans le cadre d'une névrose ou d'une psychose.

PRODUCTION CHEZ L'ANIMAL DE "TROUBLES EMOTIONNELS" SITUATIONS "ANXIOGENES"

Un problème de fond se présente d'emblée : peut-on envisager le tri de molécules nouvelles sur des animaux "normaux" ?

En effet, le tranquillisant idéal devrait n'avoir aucune action sur un comportement banal, normal et adapté ; et on peut penser que les effets qu'on observera sur un animal normal ne seront que des effets secondaires indésirables. On attend d'un tranquillisant qu'il ramène à la normale des réactions excessives ou maladaptées et non qu'il les abolisse, ce qui pourrait comporter des risques évidents.

Voyons donc comment on a essayé de résoudre ce problème.

A - Les névroses expérimentales

L'expérimentation sur des animaux névrosés, ayant des réactions inadaptées est peut-être la plus séduisante au premier abord.

Il s'agit le plus souvent de chiens, qui présentent des troubles graves du comportement, à type ou de somnolence, ou d'hyperréactivité à des stimuli banaux. On provoque ces troubles, soit en présentant à l'animal un problème d'apprentissage extrêmement compliqué, voire insoluble, soit en rendant inadéquat un apprentissage initialement réussi, soit en créant un "traumatisme" émotionnel très intense. Ces différentes méthodes de production des névroses expérimentales sont analysées en détail dans l'ouvrage de Cosnier (1966).

Le rapport entre ces "névroses" et les névroses humaines est discuté ; de toutes façons, ces procédés sont à priori inutilisables pour le tri de nouvelles molécules, en raison de la longueur de leur réalisation. En outre, chaque animal réagissant d'une façon qui lui est propre, il est difficile d'effectuer des expériences reproductibles.

B - L'anxiété chez l'animal

Peut-on parler d'anxiété chez l'animal ?

Estes et Skinner l'ont fait, en la définissant ainsi :

- 1 - C'est un état émotionnel qui ressemble à la peur,
- 2 - Le stimulus perturbant, qui est la raison de l'apparition de cet état (par exemple un choc électrique) ne le précède ou ne l'accompagne pas, mais il est attendu dans le futur.

C'est à partir de cette définition qu'ils ont construit le test de "réaction émotionnelle conditionnée" (C. E. R.) que nous avons déjà envisagé, et le conditionnement d'évitement.

Qu'est-ce que le conditionnement d'évitement ?

On place un rat dans une boîte avec un levier et un plancher électrifiable, qu'on électrifie à certains intervalles de temps. L'animal peut retarder indéfiniment un choc électrique en appuyant sur le levier.

Les comportements des rats placés dans ces deux situations expérimentales sont sous la dépendance de l'attente ou de l'anticipation des chocs électriques, et selon la définition d'Estes, nous avons des rats "anxieux".

On a constaté que, si les neuroleptiques modifient le comportement des rats dans un sens qu'on peut interpréter comme une diminution de l'anxiété (Cook et al., 1964 ; Brady, 1959) les tranquillisants n'ont révélé sur ces comportements que des effets déprimeurs à hautes doses.

Il semble donc que ce modèle ne se prête guère au tri des tranquillisants.

Les méthodes de conflit, et celles de suppression conditionnée nous paraissent assimilables dans la mesure où la suppression d'un comportement peut être considérée comme une punition plus ou moins sévère.

Les résultats de ce type de test dépendent de l'appréciation relative par l'animal des stimuli positifs ("agréables") par rapport aux stimuli négatifs ("désagréables").

Quand les animaux ont reçu un tranquillisant, tout se passe comme si, devant un conflit, ils sous-estimaient les risques, ou sur-estimaient la récompense. Si l'inverse, c'est-à-dire une surestimation de certains risques et une sous-estimation des avantages, est un facteur important dans les névroses humaines, on peut penser que l'effet observé chez les animaux dans ces expériences correspond

à un effet thérapeutique recherché.

Dans le test des quatre-plaques, la situation dans laquelle les souris se trouvent est une situation de conditionnement suppressif ; on peut en effet distinguer deux motivations opposées : l'envie d'explorer, motivation positive et la peur du choc, motivation négative.

Sous l'effet des tranquillisants, les animaux se déplacent plus et s'exposent ainsi à recevoir de plus nombreux chocs. On peut considérer qu'un tel comportement est inadapté. Dans une approche anthropomorphique, l'effet des tranquillisants que nous observons peut paraître indésirable.

On conçoit qu'un tel effet transformerait une population de sujets "normaux" en individus in-intimidables et inéducables, et peut-être en individus totalement inadaptés.

Sans aller si loin, on conçoit que cette désinhibition utile dans certains domaines peut être néfaste dans d'autres. Malgré ces réserves, le comportement, pendant le test des quatre-plaques, des souris traitées par les tranquillisants peut évoquer une diminution de l'anxiété, propriété recherchée en thérapeutique.

Ce test nous semble plus satisfaisant pour l'esprit que la recherche d'effets secondaires ou latéraux, tels l'effet myorelaxant, ou l'effet anti-convulsivant.

HYPOTHESES SUR LES MECANISMES PAR LESQUELS LES SUBSTANCES ACTIVES SUR LE TEST DES QUATRE PLAQUES EXERCENT LEURS EF- FETS

Nous allons essayer d'envisager maintenant quelles sont les structures, les systèmes neuronaux ou les modifications biochimiques sur lesquels les tranquillisants ont une action et en quoi cela pourrait expliquer leur effet sur les animaux placés dans le test des quatre plaques.

Quelles sont les différentes hypothèses en ce domaine ?

Nous en mentionnerons deux :

- Robichaud (1969) a décrit une expérience de conditionnement suppressif chez le rat, dans laquelle il a montré que la para-chloro-phénylalanine (inhibiteur de la synthèse de 5-hydroxytryptophane), exerce dans les conditions expérimentales décrites un effet semblable à celui des tranquillisants, encore que plus durable. Devant un tel résultat, il a supposé qu'une baisse du taux de sérotonine dans certaines structures entraînait pour une part dans l'effet "anxio-

lytique" observé.

Nous n'avons pas obtenu d'activité de la parachlorophénylalanine sur le test des quatre plaques, à la dose de 256 mg/kg. per os, aussi, rien ne nous permet d'impliquer la sérotonine dans les effets que nous avons observés.

- Margules et Stein se sont intéressés aux interactions entre le noyau ventro-médian de l'hypothalamus, des synapses cholinergiques et les tranquillisants.

Ces auteurs ont en effet montré, en utilisant le conditionnement suppressif de Geller et Seifter (1960), que l'injection d'un parasympholytique (atropine) dans le noyau ventro-médian supprime l'inhibition conditionnée comme le font les tranquillisants ; ils ont montré à l'opposé que des parasymphomimétiques (ésérine ou carbaminoylcholine) augmentent les phénomènes d'inhibition, et que les tranquillisants s'opposent à cet effet.

Dans notre test, l'injection d'ésérine a renforcé l'inhibition comportementale et celle de parasympholytiques comme le Ditrane, l'atropine, la scopolamine ou la bémactazine ont exercé l'effet contraire.

Il serait cependant difficile de conclure que l'effet des tranquillisants est un effet parasympholytique central, car les anti-parkinsoniens et les anti-dépresseurs, qui exercent également des effets parasympholytiques centraux n'ont, à l'exception de l'amitriptyline et du trihéxypénydyle, guère exercé d'action sur le test.

Les recherches sur les rapports entre comportement et système cholinergique sont en plein développement (Carlton, 1963, 1963 ; Oliverio, 1967). Nos résultats s'intègrent difficilement dans les théories élaborées, et paraissent bien difficilement pouvoir être utilisés comme argument en faveur d'une hypothèse quelle que soit.

VALEUR DU TEST COMME METHODE DE TRI DES TRANQUILLISANTS

EFFICACITE DU TEST DES QUATRE PLAQUES

La question à laquelle il nous faut répondre, est la suivante :
Le test permet-il de sélectionner tous les tranquillisants ?

D'emblée, la réponse apparaît difficile ; même entre cliniciens l'accord n'est pas fait sur l'efficacité des différentes substances qui sont vantées pour leurs propriétés tranquillisantes. Presque tous cependant reconnaissent l'efficacité des dérivés de la benzodiazépine (Janke et Coll.). Le phénobarbital et d'autres barbituriques sont parfois prescrits comme anxiolytiques. Ils restent d'usage courant malgré un effet sédatif certain qui, pour beaucoup, représente un effet secondaire indésirable (Rickels, 1968). Le méprobamate après une heure de gloire est abandonné par beaucoup ; une étude de la Food and Drug Administration n'a pas mis en évidence que son action anxiolytique soit supérieure à celle des placebos et, dans cette indication, il a été retiré de la vente aux Etats-Unis.

Certains neuroleptiques à dose faible (et en particulier la fluphénazine) sont utilisés comme anxiolytiques, et beaucoup estiment leur valeur égale à celle des benzodiazépines (Rickels et Coll., 1968).

Les anti-dépresseurs sont qualifiés par certains d'anxiolytiques, mais ils ne le sont que lorsqu'ils sont administrés à des déprimés. On peut penser dans ces conditions que leur effet anti-anxiété n'est qu'un reflet de leur effet anti-dépresseur, et n'a rien à voir avec les effets anxiolytiques dont nous avons parlé jusqu'à présent ; l'effet anxiolytique n'est souvent manifesté qu'un peu décalé dans le temps par rapport à l'effet anti-dépresseur ; c'est ainsi qu'on explique certains passages à l'acte en début de traitement anti-dépresseur ; et c'est la raison pour laquelle certains associent anti-dépresseur et tranquillisant ou neuroleptique.

Que dire de la masse des produits qui se vantent d'être tranquillisants ? Les publications sont très nombreuses et contradictoires. Nous n'en avons pas fait une étude exhaustive qui s'avèrerait peu concluante. Les études chez l'homme ont été réalisées selon des protocoles très variables et souvent discutables : il n'y a pas tou-

jours un groupe témoin adéquat et les essais ont très rarement été réalisés en "double aveugle" ; on conçoit que dans ces conditions, l'acceptation de ces substances comme anxiolytiques soit relativement arbitraire. C'est pourquoi il nous est apparu difficile d'utiliser les résultats de leur effet sur le test de quatre plaques comme critère d'efficacité ou d'inefficacité de ce test.

Les substances dont nous venons de reconnaître l'action tranquillisante sont-elles actives sur le test des quatre plaques ?

a - Les benzodiazépines

Le diazépam et l'oxazépam se sont révélés actifs à des doses faibles, doses pour lesquelles la motilité était pratiquement inchangée. Le critère recherché est ici vérifié sans équivoque. Le chlórdiazépoxide a exercé une action nette à une dose où on pouvait observer des effets secondaires déjà importants comme en témoigne la diminution de la motilité. Cependant, si on considère que cette dose (8 mg/kg.) est 32 fois plus faible que la dose hypnotique (Randall et al. 1968) et que le comportement des souris au cours du test ressemble bien à celui qui nous apparaît maintenant typique, de l'effet des tranquillisants, nous l'aurions retenu lors d'un premier tri de substances nouvelles.

Malgré sa structure chimique très proche, le tétrazépam est considéré essentiellement comme un myorelaxant, ayant une faible activité anxiolytique. Son inactivité sur le test ne met donc pas en doute l'efficacité du test.

En résumé, le test a trié toutes les benzodiazépines essayées pour lesquelles l'effet anxiolytique est admis en thérapeutique (Janke et al., 1968).

b - Les autres "tranquillisants"

- Le méprobamate est actif sur le test, mais à des doses qui augmentent la motilité.

Aussi nous ne l'aurions peut-être pas retenu au cours d'un tri préliminaire de substances nouvelles, son activité sur le test pouvant s'expliquer par son effet excito-moteur.

- La bénactyzine exerce une activité sur le test à plusieurs doses qui n'entraînent pas d'effets secondaires évidents, les doses sont faibles, par rapport aux doses utilisées dans d'autres études (Hecht, 1967).

Ses importantes propriétés para-sympatholytiques pourraient peut-être être reliées à son effet sur le test ; ce problème sera discuté ultérieurement.

- L'émylcamate et l'hydroxyphénamate sont actifs sur le test à des doses n'entraînant que peu d'effets secondaires retentissant sur la motilité.
- Le phénaglycodol ne s'est révélé nettement actif qu'à des doses importantes diminuant nettement la motilité.
- La trimétosine a été active à des doses déjà sédatives. Il faut ajouter que l'interprétation des résultats est compliquée par le fait qu'on lui connaît des propriétés analgésiques à fortes doses (Boissier et al. , 1965).

Les autres produits de ce groupe que nous avons essayés se sont montré inactifs sur ce test.

Disons d'emblée que le crésoxydiol et le méthocarbamol sont plus connus comme relaxants musculaires que comme anxiolytiques. Allons-nous dire des autres qu'ils ne sont pas anxiolytiques ? C'est une possibilité ; mais on peut supposer également que leur éventuelle action anxiolytique est masquée par leurs propriétés sédatives et relaxantes musculaires.

Dans la mesure où l'on recherche des anxiolytiques les plus "purs" possibles, c'est-à-dire n'entraînant qu'un minimum d'effets secondaires, nous ne pensons pas que ces résultats négatifs mettent la valeur du test en doute.

c - Les hypnotiques

Parmi les barbituriques, le phénobarbital s'est révélé actif, mais à des doses accroissant notamment la motilité, le butobarbital actif à des doses peu sédatives et l'amobarbital inactif.

Il est possible qu'il existe, dans la série des barbituriques, des produits plus sédatifs qu'anxiolytiques comme l'amobarbital et d'autres plus anxiolytiques et moins sédatifs comme le butobarbital.

L'amobarbital est bien connu chez le rat (Barry et al. , 1962) et le pigeon (Morse, 1964) pour son action dans les situations de conflit. On peut se demander si l'inactivité observée sur notre test, qui utilise des souris, ne serait pas due à une différence de métabolisme dans cette espèce.

d - Les neuroleptiques à doses faibles se sont révélés inactifs sur le test à toutes les doses. Il semble donc que le test ne soit pas capable de mettre en évidence les propriétés anxiolytiques des neuroleptiques.

Les neuroleptiques par leurs multiples propriétés pharmacologiques ne passent pas inaperçus dans les autres tests de tri ; mais ce test comme tous les tests pharmacologiques se révèle incapable de déceler parmi les neuroleptiques ceux d'entre eux doués d'une action anxiolytique.

Au total, le test nous apparaît permettre d'effectuer avec une efficacité satisfaisante le tri d'un certain type d'anxiolytiques .

SELECTIVITE DU TEST DES QUATRE PLAQUES

Le test ne révèle-t-il que les tranquillisants ou bien trie-t-il également d'autres classes de psychotropes ?

1°- Hypnotiques

Certains hypnotiques sont actifs sur le test ; ceci ne nous semble pas, - et nous l'avons discuté -, une preuve de non-sélectivité.

2°- Anti-épileptiques

Parmi les anti-épileptiques étudiés, trois substances se sont révélées actives : le phénobarbital dont nous avons déjà parlé ; la méphénitoïne, hydantoïne chimiquement très proche du phénobarbital et possédant des propriétés sédatives (Larousse, 1968), et la phényl-acétylurée. En dehors du phénobarbital, à notre connaissance, ces produits n'ont pas été essayés chez l'homme comme anxiolytiques ; peut-être possèdent-ils cette propriété.

3°- Anti-histaminiques

Leurs actions sédatives sont connues en clinique (Wyngaarden) et une thèse récente (Rault) recherchant une corrélation entre ces effets et des effets pharmacologiques a conclu : "il n'est pas possible avec un seul des tests utilisés de déceler un effet central commun à tous les anti-histaminiques étudiés".

Parmi les anti-histaminiques que nous avons étudiés, seules la prométhazine et la diphenhydramine se sont révélées efficaces sur ce test.

Ici encore, il est difficile, sur les données de la clinique, d'affirmer qu'ils sont plus anxiolytiques que les autres.

4°- Neuroleptiques

Les neuroleptiques, quelle que soit la classe chimique à laquelle ils appartiennent, se sont montré inactifs.

Pour toutes ces substances qui exercent des effets dépresseurs, on pourrait s'attendre, si l'on suit Molinengo (1969), à une activité sur le test des quatre plaques. Cet auteur explique l'effet des tranquillisants comme celui des autres psycholeptiques, par leur effet "dépresseur" sur tous les comportements ; cet effet dépresseur, selon les situations, peut porter plus sur les mécanismes qui sous-tendent un comportement, ou sur ceux qui l'inhibent. Si une telle hypothèse était fondée, on s'attendrait à ce que tous les tranquillisants, tous les hypnotiques et tous les neuroleptiques aient le même effet sur les comportements supprimés. Dans notre test, il n'en est rien.

5°- Anti-dépresseurs

Parmi les anti-dépresseurs, seule l'amitriptyline s'est révélée active sur le test. Or, c'est l'anti-dépresseur auquel sont attribuées les propriétés les plus sédatives, et il est possible que cet effet soit doublé d'un effet anxiolytique.

6°- Anti-parkinsoniens

Un des anti-parkinsoniens, le trihéxyphénidyle a été très actif sur le test. A la différence des tranquillisants, l'effet sur le test des quatre plaques s'explique peut-être par une augmentation parallèle de la motilité, c'est-à-dire par la motivation positive accrue de la souris à se déplacer. Le trihéxyphénidyle est d'ailleurs connu en clinique humaine pour ses propriétés "euphorisantes", vraisemblablement en rapport avec cette action stimulante.

7°- Nooanaleptiques et psychostimulants

Pour les substances de ces groupes, la d-amphétamine, la parachloro-méthyl-amphétamine (pCMA), la caféine, la cocaïne, nous avons trouvé une augmentation parallèle de la motilité.

Parmi les amphétaminiques étudiés, un phénomène curieux apparaît : la pCMA est active sur le test à des doses inférieures à celles qui augmentent la motilité, alors que les autres ne se sont révélés actifs qu'à des doses qui doublent au moins la motilité.

Et entre l'amphétamine et la pCMA, on peut constater une différence d'activité sur le test à doses équivalentes.

Un phénomène semblable a été discuté par Simon et Coll. (1969) qui ont alors soulevé l'hypothèse que l'amphétamine possède une action anxiogène, absente avec la pCMA, et que cette action tend à diminuer l'augmentation de la motilité dans un environnement nouveau, déjà potentiellement anxiogène.

Les résultats résumés du test des quatre plaques et de la motilité sont représentés schématiquement sur le tableau 20.

Il apparaît que sur les seuls résultats des quatre plaques, on trie des tranquillisants aussi bien que des "stimulants".

On peut alors se dire que le test n'est pas sélectif, car utilisé seul, il prête à toutes les erreurs de tri possibles.

En réalité, l'observation simple des animaux suffit à faire la différence. On peut voir également sur ce tableau qu'avec l'aide d'un second test (ici la motilité), on partage très bien le tableau en deux : en haut les tranquillisants, en bas les stimulants et que la confusion entre eux n'est guère possible.

Il nous semble donc que ce test, sans être parfaitement sélectif, l'est suffisamment pour pouvoir faire partie d'une batterie de tests de tri.

REPRODUCTIBILITE DES RESULTATS

Pour nous assurer de la reproductibilité des résultats, nous avons répété un certain nombre d'expériences.

Nous avons constaté dans des expériences nombreuses que le diazépam était actif sur le test, avec un écart de doses d'une expérience à l'autre ; mais nous avons toujours trouvé plusieurs doses actives comme le montre le tableau 21.

Nous avons obtenu des résultats analogues pour le chlórdiazépoxyde, et le trihéxyphényldile, nous avons également pu vérifier la reproductibilité des résultats avec d'autres substances : action seulement à dose forte pour la d-amphétamine, pas d'action pour les neuroleptiques.

Il nous est arrivé de trouver parmi les substances que nous avons montrées inactives sur le test une dose isolée, "active" au seuil 0,05 ; lorsque nous avons répété l'expérience nous n'avons jamais

Tableau 20

Résumé des produits actifs sur le test

	DOSES EN mg/kg. I. P.								
	1	2	4	8	16	32	64	128	256
DIAZEPAM	+	+	+						
OXAZEPAM			+	+					
CHLORDIAZEPOXIDE				+	+				
BENACTYZINE			+	+	+				
EMYLCAMATE							+	+	+
HYDROXYPHENAMATE								+	
MEPROBAMATE							+	+	
PHENAGLYCODOL								+	
TRIMETOSINE						+			
BUTOBARBITAL				+	+	+			
PHENOBARBITAL						⊕	⊕		
CHLORAL						+	+		
MEPHENYTOÏNE							+	+	
PHENYLACETYLUREE								+	+
DIPHENHYDRAMINE			+	+					
PROMETHAZINE				+					
=====									
AMITRIPTYLINE				+	+				
=====									
TRIHEXYPHENIDYLE	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕			
=====									
d-AMPHETAMINE			⊕	⊕					
p. C. M. A.		+	+	⊕	⊕	⊕			
COCAÏNE				⊕		⊕			
CAFEÏNE				⊕		⊕			

+ significativement plus grand que le témoin.

O motilité > 130 % des témoins.

retrouvé d'augmentation significative du nombre de passages.

Il semble donc s'agir d'un problème de statistique, en effet sur le très grand nombre d'expériences quelques faux résultats positifs sont inévitables.

Au total, pour les substances qui exercent sur le test un effet franc, la reproductibilité des résultats est bonne.

Nombre moyen de chocs reçus par groupe de 12 souris	TE-MOINS	DIAZEPAM en mg/kg. 1. P.					
	0	0,25	0,5	1	2	4	8
	4,1	4,0	4,9	5,8 [*]	6,8 [*]	4,1	
	4,8		6,0	7,9 [*]	7,9 [*]	4,7	
	4,7	6,62	6,4 [*]	6,6 [*]	5,2	4,5	
	4,9		4,7	9,8 [*]	9,9 [*]	10,1 [*]	2,5
	5,0		8	9,6 [*]	8,70 [*]	8,30 [*]	

Reproductibilité des résultats

Tableau 21

CAUSES D'ERREURS

Quels sont les facteurs qui pourraient donner de faux résultats positifs ou de faux résultats négatifs ?

1°- Nous avons déjà dit qu'un produit relaxant musculaire et a fortiori curarisant risquerait de voir son éventuel effet anxiolytique masqué par l'immobilité forcée de l'animal.

2°- Nous avons vu également qu'un stimulant donne des résultats positifs sur le test, mais que nous appellerons faussement positifs dans la mesure où il est fort improbable qu'ils reflètent un quelconque effet anxiolytique, mais bien plutôt un effet excito-moteur, ou une hyper-réactivité aux chocs.

3°- On conçoit qu'un produit qui empêcherait toute mémorisation, toute fixation des faits récents donnerait de faux résultats positifs. On pourrait d'ailleurs interpréter l'effet des tranquillisants à l'aide d'une hypothèse telle que celle-ci : sous l'effet des tranquillisants, le mécanisme de fixation des faits récents est "diminué" ; il faudrait alors aux animaux traités plus de chocs qu'aux témoins pour apprendre à ne pas se déplacer. Une telle hypothèse ne trouve aucune justification dans ce qu'on sait des tranquillisants chez l'homme.

4°- On imagine aussi qu'un analgésique suffisamment puissant devrait donner de faux résultats positifs. Nous ne l'avons pas observé pour les analgésiques centraux que nous avons essayé sur le test, même à dose très élevée. Pour la morphine, l'opposé, c'est-à-dire une diminution du nombre de passages punis, a été observé ; un effet semblable a d'ailleurs été remarqué dans divers autres tests de conflit (Barry et Coll., 1962 ; Geller et Coll., 1963). Aucune explication valable n'a été proposée. Peut-être d'une déviation grave du comportement ou de certaines de ses composantes (action psychodysleptique) ... Pour tous les produits actifs sur le test, on pourrait discuter un effet analgésique particulier, une déviation de la perception douloureuse du choc électrique. Nous ne connaissons pas d'effet semblable chez l'homme, mais il est peu vraisemblable qu'il ait été recherché ; si une telle hypothèse, qui ne peut être totalement éliminée, se trouvait confirmée, l'interprétation du test telle que nous l'envisageons devrait être complètement revue.

SIMPLICITE ET RAPIDITE DU TEST

La réalisation de ce test ne nous semble pas poser de problème particulier. L'expérimentateur n'a besoin d'aucune connaissance préalable. L'expérience pour un produit à tester (quatre lots de souris) prend environ une heure ; une seule personne peut donc en théorie essayer facilement six produits dans une journée. Il nous semble cependant qu'il est impossible de conserver un niveau de vigilance suffisant pour faire cette expérience pendant une journée entière, et que l'observateur moyen ne peut guère travailler sur ce test plus de trois heures dans une journée ; on peut aisément remédier à cela en faisant travailler alternativement deux personnes.

Au total, ce test est rapide et de réalisation simple.

AU TOTAL

Ce test se présente comme assez efficace, relativement sélectif s'il n'est pas utilisé seul et sans observation attentive des animaux, simple et rapide, et relativement économique.

Pour toutes ces raisons, il nous paraît utilisable comme l'un des tests de tri des substances psychotropes destiné à extraire d'un ensemble de molécules nouvelles celles d'entre elles plus particulièrement douées de propriétés anxiolytiques.

Seule, une longue utilisation systématique du test par plusieurs équipes d'expérimentateurs nous dirait si nous n'avons pas ici fait preuve d'un optimisme exagéré.

CONCLUSIONS

Le test des quatre plaques est un test de conditionnement suppressif, réalisé chez la souris.

L'appareil consiste en une boîte en plexiglass fermée par un couvercle transparent, dont le fond est formé par quatre plaques métalliques séparées l'une de l'autre. Un circuit d'alimentation permet d'établir entre deux plaques adjacentes une différence de potentiel lorsqu'on appuie sur un déclencheur.

Le test est pratiqué en plaçant une souris sur le fond de l'appareil, et en électrifiant les plaques chaque fois que la souris passe de l'une à l'autre, elle reçoit alors un choc électrique au niveau des pattes. Nous avons recherché si le test pouvait servir au tri des tranquillisants. Les divers paramètres du choc ont été étudiés et choisis de façon à induire chez les animaux un comportement facilement reproductible : impulsion électrique de durée de 0,5 seconde et d'intensité 0,6 milliampère. Une étude préliminaire du test a montré que les conditions les plus favorables étaient les suivantes : exploration libre pendant 15 secondes, traversées punies pendant la minute suivante, les résultats étant exprimés en nombre de passages punis pendant cette minute.

La distribution du nombre de punitions chez la souris témoins suit approximativement une loi normale, et la significativité de la différence entre groupes de sujets traités et témoins a été évaluée par un test t .

Le comportement des animaux dans ce test peut être interprété comme une surestimation des récompenses ou une sous-estimation des risques selon les situations; un tel effet peut être soit recherché, soit craint. Les résultats peuvent être également interprétés comme le reflet d'une activité anxiolytique.

L'efficacité du test pour le tri des substances anxiolytiques a été étudiée en recherchant l'effet de substances connues par les thérapeutes pour cette propriété ; des benzodiazépines, des barbituriques, des neuroleptiques ; bien que les résultats obtenus ne nous aient pas permis de distinguer parmi les neuroleptiques ceux d'entre eux considérés chez l'homme comme anxiolytiques, ce test nous semble effectuer

d'une manière satisfaisante le tri d'un certain type de tranquillisants.

Dans l'étude de la sélectivité du test, les résultats chiffrés du test montrent que d'autres substances ont donné des résultats positifs :

Des produits excito-moteurs comme le trihéxyphénidyle, l'amphétamine, la cocaïne, la caféine et d'autres connus soit comme tranquillisants d'effet discuté, soit comme anti-épileptique, soit comme anti-histaminiques, ainsi que l'amytriptiline.

L'effet excito-moteur observable directement sur les animaux et visible sur une mesure de motilité, est vraisemblablement responsable des résultats positifs donnés par les substances qui le possèdent. Pour les autres substances, se pose le problème mal élucidé d'une éventuelle action anxiolytique chez l'homme. Les résultats se sont révélés reproductibles.

Ce test est simple et assez rapide puisque pour 3 lots de 12 souris traitées et un lot de témoins, il peut être effectué en une heure.

Au cours de ce travail, nous avons été amenés à discuter quelques problèmes de fond : ce qu'on attend des tranquillisants en thérapeutique ; la difficulté de leur évaluation chez l'homme ; en quoi les situations animales utilisées pour leur tri sont en rapport avec les troubles que les tranquillisants doivent réduire ; et les problèmes de création de "névroses" ou d' "anxiété" chez l'animal.

Dans la mesure où on ne possède pas actuellement de test de tri des tranquillisants qui soit à la fois efficace, sélectif et simple, ce test nous semble pouvoir figurer au milieu d'une batterie de tests destinés au tri des psychotropes.

Vu le Président de Thèse :

J.R. BOISSIER

Vu le Doyen de la Faculté :

G. BROUET

Vu et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris :

R. MALLET

BIBLIOGRAPHIE

- BARRY H. and MILLER N. E. -
Effects of drugs on approach-avoidance conflict tested repeatedly by means of a "telescope alley".
J. Comp. Psychol. Physiol. 1962, 55, 201-210.
- BARRY H. - MILLER N. E. and TIDD G. E. -
Control for stimulus change while testing effects of amobarbital on conflict.
J. Comp. Psychol. Physiol. 1962, 55, 1071-1074.
- BOISSIER J. R. -
La morphine est-elle un tranquillisant ?
Thérapie, 1962, 17, 519-528.
- BOISSIER J. R. et SIMON P. -
Action de la caféine sur la motilité spontanée de la souris.
Arch. Int. Pharmacodyn., 1965, 158, 212-221.
- BOISSIER J. R. et SIMON P. -
Evaluation of experimental techniques in the psychopharmacology of emotion.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1969, 159, 898-914.
- BLACKMAN D. -
Effects of drugs on conditioned "anxiety".
Nature, 1968, 217, 769-770.
- BRADY J. V. -
Drugs effects on affective behaviour.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1956, 64, 632.
- BRADY J. V. -
Animal experimental evaluation of drug effects upon behaviour, In the effect of pharmacological agents on the nervous system.
Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1959.

- BRADY J. V. -
 Drugs in behaviour therapy; In Psychopharmacology :
 a review of progress 1957-1967, D. H. EFRON ed.,
 pp. 271-280, Public Health Service Publication, Was-
 hington, 1968.
- CARLTON P. L. -
 Cholinergic mechanisms in the control of behaviour by
 the brain.
 Psychol. Rev., 1963, 5, 19-39.
- CARLTON P. L. -
 Cholinergic mechanisms in the control of behaviour.
 In A review of progress 1957-1967, D. H. EFRON ed.,
 pp. 125-134, Public Health Service Publication, Was-
 hington, 1968.
- COOK L. and KELLEHER R. T. -
 Effects of drugs on behaviour.
 Ann. Rev. Pharmacol., 1963, 3, 205-222.
- COOK L. and CATANIA A. C. -
 Effects of drugs on avoidance and escape behaviour.
 Fed. Proc., 1964, 23, 818-835.
- COSNIER J. -
 Les névroses expérimentales : de la psychologie anima-
 le à la pathologie humaine.
 Ed. Seuil, Paris, 1966.
- DELAY J. et DENIKER P. -
 Méthodes chimiothérapiques en psychiatrie.
 Les nouveaux médicaments psychotropes.
 Ed. Masson et Cie, Paris, 1961.
- DEWS P. B. -
 The measurement of the influence of drugs on volunta-
 ry activity in mice.
 Brit. J. Pharmacol., 1953, 8, 46-48.
- ESTES W. K. and SKINNER B. F. -
 Some quantitative properties of anxiety.
 J. Exp. Psychol., 1941, 29, 390-400.
- GELLER I. -
 Use of approach avoidance behaviour (conflict) for eval-
 uating depressant drugs.
 In Psychosomatic medicine, J. H. Nodine and J. H. Mo-
 yer ed., pp. 267-274, Lea and Febiger, Philadelphia,
 1963.

- GELLER I. - BACHMAN E. and SEIFTER J. -
Effect of reserpine and morphine on behavior suppressed by punishment.
Life Science, 1963, 4, 226-231.
- GELLER I. and SEIFTER J. -
The effects of meprobamate, barbiturates, d-amphetamine and promazine on experimentally induced conflict in the rat.
Psychopharmacologia, 1960, 1, 482-492.
- GIURGEA C. -
Pharmacological criteria for the classification of tranquillizers. In the present status of psychotropic drugs. A. Cerletti Ed., pp. 154-167, Exerp. Med. Found. 1969.
- GOODMAN L. G. and GILMAN A. -
The pharmacological basis of therapeutics.
Macmillan, N.Y., 1965.
- HANSON H. M. and STONE C. A. -
Animal techniques for evaluating anti-anxiety drugs. In Pharmacologic techniques in drugs evaluation, J. H. Nodine and P. E. Siegler Ed., pp. 317-324, Year book medical publishers, Chicago, 1964.
- HUNT H. F. -
Some effects of meprobamate on conditioned fear and emotional behaviour.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1957, 67, 712-722.
- IRWIN S. -
Anti-neurotics : practical pharmacology of the sedative-hypnotics and minor tranquillizers
In Psychopharmacology, a review of progress, 1957-1967, D. H. EFRON Ed., pp. 185-204, Public Health Service Publication, Washington, 1968.
- IRWIN S. - BENUAZIZI A. - KALSNER S. and CURTIS A. -
One trial learning in the mouse : its characteristics and modifications by experimental seasonal variables.
Psychopharmacologia, 1968, 12, 286-302.
- JANKE W. and DEBUS G. -
Experimental studies on anti-anxiety agents with normal subjects : methodological considerations and review of main effects.
In Psychopharmacology : a review of progress, 1957-1967, D. H. EFRON Ed., pp. 205-230, Public Health Service Publication, Washington, 1968.

JANSSEN P. A. J. -

Screening tests and prediction from animal to man.
In Animal behavior and drug action, H. Steinberg Ed.
pp. 264-268, J. A. Churchill, London, 1964.

LANG W. J. and GERSHON S. -

Effects of psychoactive drugs on yohimbine induced
responses in conscious dogs ; a proposed screening
procedure for anti-anxiety agents.
Arch. Int. Pharmacodyn., 1963, 142, 457-472.

LAROUSSE C. -

Action des antiépileptiques sur les convulsions provo-
quées par le flurotyl chez la souris.
Thèse de Médecine, Paris, 1968.

LAUENER H. -

Conditioned suppression in rats and the effect of phar-
macological agents thereon.
Psychopharmacologia, 1963, 4, 311-325.

LEHMANN H. E. -

Tranquillizers : clinical insufficiencies and needs.
In The present status of psychotropic drugs.
A. Cerletti ed., pp. 168-175, Excerpta Medica Foun-
dation, 1969.

MARGULES D. L. and STEIN L. -

Neuroleptics versus tranquillizers : evidence from ani-
mal behaviour studies ; studies of mode and site of ac-
tion.
In Proceedings of the fifth International Congress of the
Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum,
H. Brill ed., pp. 108-120, Excerpta Medica Foundation,
1967.

MOLINENGO L. and RICCI-GAMALERO S. -

Behavioural action and tranquillizing effect of reserpine,
diazepam and hydroxyzine.
Arch. Int. Pharmacodyn., 1969, 180, 217-231.

MORSE W. H. -

Effects of amobarbital and chlorpromazine on punished
behaviour in the pigeon.
Psychopharmacologia, 1964, 6, 286-294.

NAESS K. and RASMUSSEN E. W. -

Approach-withdrawal responses and other specific be-
haviour reactions as screening test for tranquillizers.
Acta Pharmacol. et Toxicol., 1958, 15, 99-114.

- OLIVERIO A. - BOVET-NITTI F. and BOVET D. -
Effects of cholinergic drugs on avoidance conditioning and maze learning of mice.
In Proceedings of the fifth International Congress of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum, H. Brill ed., pp. 213-219, Excerpta Medica Foundation, 1967 .
- RANDALL L. O. and SHALLER W. -
Pharmacological activity of certain benzodiazepine.
In Psychopharmacology, a review of progress, 1957-1967, D. H. EFRON ed., pp. 153-184, Public Health Service Publication, Washington, 1968.
- RAULT B. -
Contribution à l'étude de l'action psycholeptique expérimentale des antihistaminiques,
Thèse de Pharmacie, 1969.
- RAY O. S. -
The effect of tranquillizers on positively and negatively motivated behaviour in rats.
Psychopharmacologia, 1963, 4, 326-342.
- RICKELS K. -
Antineurotic agents ; specific and non specific agents.
Psychopharmacology : a review of progress, 1957-1967, D. H. EFRON ed., pp. 231-247, Public Health Service Publication, Washington, 1968.
- RICKELS K. - RAAB E. - GORDON P. E. - LAQUER K. G. -
DE SILVERIO R. V. and HESBACHER P. -
Differential effects of chlordiazepoxide and fluphenazine in two anxious patients populations.
Psychopharmacologia, 1968, 12, 181-192.
- ROBICHAUD R. C. and SLEDGE K. L. -
The effects of p. chlorophenyl alanine on experimentally induced conflict in the rat.
Life Science, 1969, 8, 965-969.
- SACRA P. - RICE W. B. and Mc COLL J. D. -
A cat and mouse test for studying changes in conflict behaviour.
Canad. J. Biochem. Physiol., 1957, 35, 1151-1152.
- SHARPLESS S. K. -
Hypnotics and sedatives.
In The pharmacological basis of therapeutics, Goodman L. G. and Gilman A., pp. 105-142, Macmillan, N.Y., 1965.

SIMON P. -

Amphetamines and related compounds.

In Proceedings of the Mario Negri Institute for Pharmacological research, Costa E & Garattini S. ed., pp. 216-225, Raven Press N.Y., 1969.

SLOTNIK B.M. and JARVIK M.E. -

Deficits in passive avoidance and fear conditioning in mice with septal lesions.

Science, 1966, 154, 1207-1208.

VALZELLI L. -

Drugs and aggressiveness.

Advances in pharmacology, 1967, 5, 79-108.

WYNGAARDEN J.B. - SEEVERS M.H. and MICH A.A. -

The toxic effect of antihistaminic drugs

J. Am. Med. Assoc., 1951, 145, 277-282.

TABLE DES MATIERES

	<u>Pages</u>
<u>INTRODUCTION</u>	1
Les tests de tri des tranquillisants	2
Qu'est-ce qu'un test de tri ?	5
<u>ETUDE PRELIMINAIRE DU TEST DES QUATRE PLAQUES</u>	11
L'appareil	11
Animaux utilisés	12
Description du comportement de souris naïves au cours du test	12
Etude paramétrique	13
Problème de l'automatisation	16
Les témoins	19
Etude de quelques substances	20
<u>ETUDE COMPLEMENTAIRE DU TEST</u>	29
. Animaux utilisés	29
. Appareils utilisés	29
Test des quatre plaques	29
Mesure de l'activité motrice	30
Administration de drogues : généralités	30
Echelles de dose choisie	31
. Résultats	31
Tranquillisants	31
Hypnotiques	37
Anti-épileptiques	38
Anti-histaminiques	41
Neuroleptiques	42
Anti-dépresseurs	45

	<u>Pages</u>
Anti-parkinsoniens	45
Noonanaleptiques et psychostimulants	47
Analgésiques	49
Divers	51
 <u>DISCUSSION GENERALE</u>	 53
Les tranquillisants et leur utilisation chez l'homme	 53
Production chez l'animal de troubles "émotionnels", situations "anxiogènes"	 55
Hypothèses sur les mécanismes par lesquels les substances actives sur le test exercent leurs actions	 57
 <u>VALEUR DU TEST COMME METHODE DE TRI DES TRANQUILLISANTS</u>	 59
Efficacité du test des quatre plaques	59
Sélectivité du test	62
Reproductibilité des résultats	64
Causes d'erreurs	66
Simplicité et rapidité du test	67
 <u>CONCLUSIONS</u>	 69
 <u>BIBLIOGRAPHIE</u>	 I
